Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Ehem. Direktor: Professor Dr. med. K. Betke

Die Ausscheidung von Di- und Polyaminen im Urin des Menschen unter normalen und pathologischen Bedingungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Elisabeth Kohne
aus Lengerich Krs. Lingen

1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547604_0042

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Ehem. Direktor: Professor Dr. med. K. Betke

Die Ausscheidung von Di- und Polyaminen im Urin des Menschen unter normalen und pathologischen Bedingungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Elisabeth Kohne
aus Lengerich Krs. Lingen

1968

Mit Unterstützung der Stiftung Volkswagenwerk

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. W. Graumann

1. Berichterstatter: Professor Dr. K. Betke
2. Berichterstatter: Professor Dr. F. Lembeck

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. Einleitung 1

1. Über das Vorkommen von Di- und Polyaminen in der Natur 1

A. Cadaverin und Putrescin 1
1. Vorkommen 1
2. Synthese-Abbau 2
3. Bedeutung der Diamine 3

B. Spermin und Spermidin 4
1. Vorkommen 4
2. Synthese-Abbau 6
3. Physiologische und pharmakologische Wirkung 7

2. Frühere Untersuchungen über die Ausscheidung von Di- und Polyaminen im Urin des Menschen 9

A. Cystinurie 9

B. Andere Krankheiten 10

3. Fragestellung 10

II. Probanden 12

III. Material und Methode 16

A. Anreicherung der Di- und Polyamine an Dowex 50 x 2 16

B. Säulenchromatographische Trennung 17

C. Quantitative Bestimmung der Di- und Polyamine 18

Seite

D. Identifizierung der einzelnen Peaks im Säuleneluat nach Trennung am Amberlite IRP 64 18
1. Dünnschichtchromatographie 18
a) Identifizierung der Dinitrophenylderivate 18
b) Identifizierung der freien Di- und Polyamine 19
2. Rechromatographie an Dowex 50 x 8 20
3. Bestimmung der Absorptionsquotienten der Dinitrophenylderivate in Dioxan nach Dubin 20
4. Hydrolyse der aus dem Urin extrahierten Substanzen .. 21

IV. Ergebnisse 31

V. Diskussion 37

VI. Zusammenfassung 43

VII. Literaturverzeichnis 45

VIII. Abbildungen 51

I. EINLEITUNG

1. ÜBER DAS VORKOMMEN VON Di- UND POLYAMINEN IN DER NATUR

A. Cadaverin und Putrescin

1. Vorkommen

Brieger isolierte im Jahre 1885 zwei Basen aus faulenden tierischen Organen, die er Cadaverin und Putrescin nannte (1). Sie erwiesen sich identisch mit dem inzwischen synthetisch dargestellten 1,5-Diaminopentan bzw. 1,4-Diaminobutan. Seitdem ist die Entstehung von Cadaverin und Putrescin bei der bakteriellen Zersetzung eiweißhaltiger Naturprodukte beobachtet worden, z.B. bei der Fäulnis von Pferdefleisch, Eiereiweiß, Pankreas, ferner im Käse, in Sojabohnen und im Sauerkraut (2).

In Experimenten an pepton- und glukosehaltigen Nährböden von Lysin und Ornithin, auf die man Fäulnisbakterien einwirken ließ, konnte die biologische Produktion von Cadaverin und Putrescin aus diesen beiden Aminosäuren nachgewiesen werden. Die Diaminbildung erfolgt durch die Wirkung spezifischer bakterieller Decarboxylasen (3).

Bei Pflanzen kommen Diamine vor: im Mutterkorn, in Hefe und Pilzen. Putrescin war außerdem in den Nebenalkaloiden von Datura stramonium und Atropa belladonna vorhanden (2). Herbst u. Mitarb. (4) wiesen Putrescin in Citrusfrüchten nach, diese Beobachtung konnte später bestätigt werden (5). In Citrusfrüchten war auch Feruloylputrescin enthalten (6). Weiter unten wird auf das häufige Vorkommen von Putrescin in Mikroorganismen eingegangen.

Erstmals 1889 wurde über eine Ausscheidung von Cadaverin und Putrescin im menschlichen Urin berichtet. Von Udransky und Baumann (7) isolierten bei einem Patienten mit Cystinurie große Mengen Cadaverin und etwas kleinere Mengen Putrescin aus dem Urin, im Darminhalt fanden sich die beiden Diamine in umgekehrtem Verhältnis.

2. Synthese-Abbau

a) Im tierischen Organismus:

Durch die Wirkung der Decarboxylasen der Darmbakterien wird Lysin zu Cadaverin, Arginin zu Agmatin decarboxyliert. Arginin wird jedoch durch die Tätigkeit spezifischer Colonbakterien vorwiegend in Ornithin umgewandelt, zumal das pH im Darmtrakt diesen Abbauweg vermutlich begünstigt (8). Aus Ornithin entsteht durch Decarboxylierung Putrescin.
Die Diamine werden im Colon resorbiert und mit Hilfe der Diamin-Oxydase in die entsprechenden Aldehyde umgewandelt, dabei entsteht aus Cadaverin δ-Aminovaleraldehyd, aus Putrescin γ-Aminobutyraldehyd (9). Der weitere Abbau geht über die Oxydation der Aldehyde zu den Carbonsäuren δ-Aminovaleriansäure bzw. γ-Aminobuttersäure, aus denen schließlich CO_2 und Harnstoff gebildet werden (10).
Daneben können sich die genannten Aldehyde auch spontan in die heterocyclischen Amine Piperidin und Pyrrolidin umwandeln. Beide wurden im normalen Urin gefunden (11). Bei Patienten mit Cystinurie waren sie vermehrt im Urin vorhanden (10). Nordenström beschrieb einen erheblichen Anstieg der Piperidin-Ausscheidung bei Kaninchen nach oraler Verabreichung von Cadaverin oder Lysin (12).

b) Synthese und Abbau in Mirkoorganismen

Die Synthese von Putrescin in Mikroorganismen wurde an Kulturen von E. coli beobachtet und verlief auf zwei verschiedenen Wegen:
1. auf direktem Wege durch Decarboxylierung von Ornithin. Das katalysierende Enzym wurde von Morris und Pardee (13) als "biosynthetische" Ornithin-Decarboxylase bezeichnet, zum Unterschied zu der abbauenden Decarboxylase, wie sie von Gale (3) beschrieben wurde. Die beiden Enzyme unterscheiden sich durch ihr pH-Optimum, die Hitzestabilität und durch die Bedingungen ihrer Entstehung (13).

1. $NH_2(CH_2)_3\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH \rightarrow NH_2(CH_2)_4NH_2 + CO_2$

2. Umwandlung von Arginin zu Putrescin in zwei Schritten: Zunächst erfolgt die Decarboxylierung von Arginin zu Agmatin, welches anschließend hydrolysiert wird. Auch hierbei wurde die "synthetische" Decarboxylase unterschieden von der katalytischen Decarboxylase, und zwar durch ein unterschiedliches pH-Optimum und den Verbrauch von Magnesium-Ionen (13).

2. $NH_2\text{-}\underset{\underset{NH}{\|}}{C}NH(CH_2)_3\underset{\underset{NH_2}{|}}{C}HCOOH \rightarrow NH_2\underset{\underset{NH}{\|}}{C}NH(CH_2)_4NH_2 + CO_2$

3. $NH_2\underset{\underset{NH}{\|}}{C}NH(CH_2)_4NH_2 + H_2O \rightarrow NH_2(CH_2)_4NH_2$

Der Abbau
von Putrescin durch Mikroorganismen zu γ-Butyraldehyd wurde an zellfreien Extrakten von einer Reihe von Mirkoorganismen demonstriert (Z.B. E.coli, Serratia marcescens, Corynebakterium diphteriae, Mycobakterium smegmatis, Pseudomonas-Arten). Zwei Enzyme katalysierten den Abbau: eine Diamin-αKetoglutarat-Transaminase und eine Diamin-Oxydase (14).
Wie oben beschrieben, sind die Aminosäure-Decarboxylasen in zahlreichen Bakterien nachgewiesen worden (3). Lysin-Arginin und Ornithindecarboxylasen waren z.B. in E.coli, Bacillus subtilis und Bacillus mesentericus vorhanden. Die Enzymproduktion setzte ein nach Hinzufügen der entsprechenden Aminosäure zum Nährmedium. DasWachstum mußte in saurem Milieu erfolgen (3).

Die Diamin-Oxydase ist in den verschiedenen Organen und im Plasma vorhanden. Sie wurde aus der Schweineniere hochgereinigt dargestellt (9). Im menschlichen Plasma wurde z.B. das Verhältnis der Diamin-Oxydase-Aktivität von mütterlichem zu fetalem Plasma bestimmt und betrug 166 : 1 (15). Große Aktivitäten befinden sich in der Darmschleimhaut, wo vermutlich die Abbauvorgänge der Diamin e zum größten Teil ablaufen. Unter physiologischen Bedingungen wird nur ein geringer Teil der Aminosäuren decarboxyliert, so daß die im Organismus gebildete Menge an Diaminen gering ist und unter dem Einfluß der entsprechenden Enzyme vollständig abgebaut wird. Im normalen Urin werden sie daher nicht oder nur in Spuren ausgeschieden (2).

3. Bedeutung der Diamine

Über die Bedeutung der Diamine im tierischen und menschlichen Organismus ist bis heute kaum etwas bekannt. Hanke und Koessler (16) vermuteten, daß die bakterielle Produktion von Aminen in saurem Milieu als Schutzmechanismus gegen die Anhäufung von H^+-Ionen erfolge.
Pharmakodynamische Wirkungen sollen bei Cadaverin und Putrescin erst in der Nähe toxischer Dosen in Erscheinung treten. In der älteren Literatur widersprachen die Aussagen einander, indem die Diamine einerseits als giftigt, anderer-

seits als harmlos beschrieben wurden (7).
Johnston (8) berichtete 1928, daß Cadaverin für Frösche und Kaninchen nicht toxisch war, jedoch eine Muskelrelaxation verursachte und eine besondere Affinität zur Niere besaß.
Veeraraghaven u. Mitarb. (7) vermuteten einen Zusammenhang zwischen der Darmsymptomatik bei Cholera und der von ihnen nachgewiesenen vermehrten Bildung von Cadaverin, die sie als Folge einer experimentell hervorgerufenen Cholerainfekton beobachteten. Ähnliche Zusammenhänge zwischen Cholera-Infektion und vermehrter Cadaverinentstehung im Darm waren bereits von Brieger (1) vermutet worden.
In toxischen Dosen betrafen die durch Cadaverin und Putrescin hervorgerufenen Erscheinungen vorwiegend das Zentralnervensystem und äußerten sich durch Krämpfe, Paresen und Kreislauf- und Atemstörungen (2).
Putrescin vermochte die Entgiftung des Histamins zu verzögern und im Experiment die Wirkung kleiner intravenös verabreichter Histamingaben zu verstärken und zu verlängern (19).

B. Spermin und Spermidin

1. Vorkommen

Spermin und Spermidin sind aliphatische Polyamine, die im biologischen Material weit verbreitet sind. Von ihrer Struktur her können sie aufgefaßt werden als Derivate des 1,4-Diaminobutan (=Putrescin):

$NH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2$ = 1,4-Diaminobutan

$NH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-NH(CH_2)_3-NH_2$ = Spermidin

$H_2N(CH_2)_3-NHCH_2-CH_2-CH_2-CH_2-NH(CH_2)_3NH_2$ = Spermin

Bereits 1678 wurde das Spermin in der Spermaflüssigkeit entdeckt, und zwar beschrieb Leeuwenhoek (20) in seiner Arbeit über die Spermatozoen das Vorhandensein bestimmter Kristalle, ohne sie genauer zu identifizieren. Seit der Neuentdeckung durch Böttcher wurden sie als Böttchersche Kristalle bezeichnet (21).
Der Name Spermin geht zurück auf Schreiner, der die Kristalle als Phosphat einer organischen Base identifizierte (22). Schreiner konnte das Spermin auch in vielen anderen Gewebsflüssigkeiten nachweisen. Rosenheim schließlich entdeckte die Verfahren zur Isolierung, die es ermöglichten, Spermin aus dem Sperma, aus

verschiedenen anderen tierischen Organen und aus Hefe darzustellen (23). Neben dem Spermin fand sich regelmäßig auch Spermidin.

Durch eine Anzahl von Untersuchungen aus neuerer Zeit wurden einige Erkenntnisse gewonnen, aus denen sich verschiedene Gesichtspunkte für die mögliche Bedeutung von Spermin und Spermidin ergeben könnten.
Wesentliche Voraussetzung war die Entwicklung von Methoden, die zum Nachweis auch kleinerer Mengen geeignet sind. Zu diesem Zweck wurden chromatographische Verfahren benutzt (24), die mit anderen Methoden kombiniert wurden. (Extraktion in n- oder t-Butanol, Messung der optischen Dichte nach Überführung in die Dinitrophenylderivate (24, 25); Papierchromatographie (26); Papierelektrophorese (27, 33)), um einige der üblichen Verfahren zu nennen.

Auf diese Weise wurde es möglich, den Spermin- und Spermidingehalt in verschiedenen tierischen Organen zu bestimmen. Die höchsten Konzentrationen wurden gefunden in der Prostata, im Pankreas, in der Leber und Milz (24); im Nervengewebe (28, 29); in der Muskulatur (30); außerdem in embryonalen Geweben (31).

Neben Spermin und Spermidin fanden Perry u. Mitarb. (29) auch Putrescin im Gehirn von Katzen. In den Faeces von Kühen wurde Spermin neben 1,3-Diaminopropan, Putrescin und Cadaverin nachgewiesen (32).

Beim Menschen wurde über das Vorkommen von Polyaminen im Sperma, im Pankreas, in der Leber und Lunge (33), sowie in Retikulocyten und im Gehirn berichtet (28).

Rosenthal und Tabor berichteten außerdem über das Vorkommen von Spermin im Blut von Mäusen, Ratten und im Blut des Menschen. Dabei befanden sich die Polyamine in den Blutzellen, nicht dagegen im Plasma (24).

Über eine Ausscheidung von Spermin und Spermidin im Urin ist bislang lediglich in einer Arbeit berichtet worden: Nach Verabreichung von Spermin an Ratten, Mäuse oder Kaninchen wurden 4 - 21% der verabfolgten Menge im 24 Std.-Urin wieder ausgeschieden; 4,3 - 8% der verabreichten Sperminmenge erschien als Spermidin (24). Eine Toleranzzunahme nach einer Belastung über längere Zeit mit ansteigenden Dosen Spermin wurde dabei nicht beobachtet.

Außer bei den genannten Lebewesen ist noch über das Vorkommen von Putrescin, Spermin und Spermidin im Gift der Vogelspinne (26), in der Seidenraupe (39) und in Getreide-Keimlingen berichtet worden (40).
Noch ungeklärt ist die Identität des sogenannten "Malignolipins", eines Phospholipids, welches als Bestandteil u.a. Spermidin enthielt und aus malignem Tumorgewebe isoliert wurde (34).

Hohe Konzentrationen an Spermin und Spermidin wurden in verschiedenen Mikroorganismen nachgewiesen, z.B. in E.coli (35), Azotobakter vinelandii (36), und besonders in gramnegativen Bakterien (37). Daneben fand sich regelmäßig Putrescin.

Von Bedeutung scheint der hohe Gehalt an Polyaminen in Bakteriophagen zu sein, wie er z.B. in einigen Phagenstämmen von E.coli beschrieben wurde (38).

Bei der Untersuchung der intrazellulären Verteilung in den Bakterien zeigte sich, daß die Polyamine in der Ribosomenfraktion nachzuweisen waren (27, 41). Ebenfalls in Leberzellen waren die Polyamine in den Ribosomen lokalisiert (41). Nach den Ergebnissen von Raina (42) waren die Polyamine in mikrosomalen Partikeln aus Rattenleber an RNS gebunden. Shimizu u. Mitarb. beschrieben die Lokalisation von Spermin in den Nukleoli von Blutzellen (28).

Bei der Anwendung von säulenchromatographischen Methoden wurde gelegentlich auch über kleine Mengen nicht zu identifizierender Substanzen berichtet, die bei der Analyse von tierischen Organen in der Cadaverin-Gegend eluiert wurden, so daß möglicherweise auch Cadaverin in tierischen Geweben vorkommt (24). Zillig (27) fand Cadaverin in Leberribosomen, wo es zusammen mit Spermidin vorkam. Von Fischer und Bohn (33) dagegen wird das Vorhandensein von Cadaverin in frischen Organextrakten bestritten.
Demgegenüber gehen Herbst und Weaver (43) an, daß Putrescin und 1,3-Diaminopropan in tierischen Geweben ebensoweit verbreitet sind wie Spermin und Spermidin.

2. Synthese-Abbau

Während inzwischen über die Verteilung der Polyamine in verschiedenen tierischen und pflanzlichen Geweben mehrere Berichte vorliegen, ist über ihre Synthese zumindest in den Organen der Säugetiere nichts bekannt.
Die Synthese in Mikroorganismen wurde von H. Tabor u. Mitarbeitern an E.coli untersucht (36). Dabei wurde im zellfreien Extrakt der Einbau von markiertem Putrescin in Gegenwart von ATP, Mg^{++} und Methionin in Spermin und Spermidin demonstriert. S-Adenosylmethionin wurde dabei durch Decarboxylation in S-Adenosyl(5')-3methylmercaptopropylamin umgewandelt. Letzteres reagierte mit Putrescin unter Bildung von Spermidin und 5'-Methyladenosin. Spermin wird durch Kopplung von Spermidin mit einem weiteren Molekül S-Adenosyl-(5')-3methylmercaptopropylamin gebildet.

1. ATP + L-Methionin $\xrightarrow{Mg^{++}}$ S-Adenosylmethionin

2. S-Adenosylmethionin → S-Adenosyl(5')-3methylmercaptopropylamin

3. S-Adenosyl(5')-3methylmercaptopropylamin + Putrescin → Spermidin + [thiomethyladenosin]

Der Abbauweg der Polyamine im Stoffwechsel der Säugetiere und Mikroorganismen ist erst in neuerer Zeit teilweise geklärt worden.
Tabor u. Mitarb. (44) isolierten aus dem Plasma von Rindern eine Amin-Oxydase, die neben einer Reihe anderer Amine auch Spermin und Spermidin oxydierte. Die Oxydation von Spermidin setzte am endständigen C-Atom ein, als Reaktionsprodukt entstand ein Di-Aldehyd mit der gleichen Anzahl von C-Atomen wie Spermidin (45).
In Bezug auf den bakteriellen Stoffwechsel wurden zwei Wege beschrieben: Es können Polyaminderivate gebildet werden, z.B. N-Acetylderivate (46), oder die Polyamine werden dem oxydativen Abbau unterzogen (47). Die Umwandlung in N-Acetylderivate wurde von Dubin und Rosenthal an E. coli beobachtet und folgende Substanzen dabei isoliert: Monoacetylputrescin, 2 isomere Formen von Monoacetylspermidin (A und B), Monoacetylspermin, sowie Diacetylspermin (46).

Den oxydativen Abbau beschrieb Bachrach auf Grund seiner Ergebnisse bei einem Stamm von Serratia marcescens (47). Als Reaktionsprodukte fand er 1,3-Diaminopropan und γ-Aminobuttersäure, die sich unter Ringschluß in δ-$_1$Pyrrolin verwandelte. Einige Bakterien oxydierten das 1,3-Diaminopropan weiter unter Bildung von β-Alanin, wie es z.B. von Pseudomonas aeruginosa beschrieben wurde (48); wohingegen bei Versuchen mit Serratia marcescens kein weiterer Abbau von 1,3-Diaminopropan bemerkt wurde (47).
Der 1,3-Diaminopropan-Gehalt der Mikroorganismen stammt also vermutlich aus dem Spermidin-Stoffwechsel (51).

3. Physiologische und pharmakologische Wirkung

Infolge des weit verbreiteten Vorkommens der Polyamine in der Natur besteht großes Interesse an der Aufklärung ihrer spezifischen biologischen Funktion. Am wenigsten weiß man über ihre Bedeutung in tierischen Geweben. In jüngerer Zeit sind über ihre möglichen physiologischen und pharmakologischen Wirkungen einige Hypothesen aufgestellt worden.

Dabei wurden Informationen über die eventuelle physiologische Bedeutung der Polyamine durch Untersuchungen ihres Einflusses auf das Wachstum von Mikroorganismen gewonnen: für eine Anzahl von Bakterien sollen Spermin und Spermidin daneben auch Putrescin und 1,3-Diaminopropan, eine Rolle spielen als essentielle Wachstumsfaktoren (49, 50, 51).
Auch über die Funktion der Polyamine in ihrem Verhältnis zu Nukleinsäuren wurden in neuerer Zeit einige Überlegungen angestellt.
Nach den Ergebnissen mehrerer Autoren haben die Polyamine zu Nucleinsäuren eine starke Affinität und bilden mit ihnen Komplexe (48, 52, 53, 54). Ames u.a. beschrieben die Existenz eines Polyamin-DNS-Komplexes in bestimmten Bacteriophagen (55), wobei als Funktion der Polyamine eine Neutralisation der sauren Gruppen der DNS angenommen wurde.
Zu diesem Ergebnis kamen auch Zillig u. Mitarb. anhand ihrer Befunde bei Ribosomen von E.coli und Leberzellen, in denen sie einen Gehalt an Di- und Polyaminen feststellten, der ausreichte, um ein Drittel der sauren Gruppen der DNS zu neutralisieren. Zillig vermutete daher, daß die Polyamine für den strukturellen Zusammenhalt der Ribosomen notwendig sind (27).

Anhand ihrer Ergebnisse bei Experimenten an Hühnerembryonen postulierten Caldarera u.a. eine wichtige Bedeutung für im Wachstum befindliche Gewebe. Während der Entwicklung der Embryonen war ein Konzentrationsanstieg sowohl der Nukleinsäuren als auch der Polyamine feststellbar. Daraus und aus der Beobachtung, daß Polyamine besonders reichlich in Geweben mit rascher Zellproliferation vorhanden waren, wurde ein stimulierender Einfluß auf die DNS-Synthese gefolgert (32).
Diese Hypothese konnte durch die Arbeit von Brewer (56) gestützt werden, der einen stimulierenden Effekt von Spermin auf die Aktivität der DNS-Polymerase bemerkte.
Für einen solchen Einfluß der Polyamine auf die Zellproliferation sprachen auch die Befunde von Dykstra, der einen erheblichen Anstieg der Spermidin-Menge in Leberzellregeneration nach teilweiser Hepatektomie registrierte (57).

Auf Grund der pharmakodynamischen Eigenschaften der Polyamine wurde tierexperimentell vor allem eine Nephrotoxicität hervorgehoben. Schon die einmalige Injektion einer bestimmten Spermin-Dosis rief bei Mäusen, Ratten und Kaninchen Nekrosen der proximalen Tubulusepithelien hervor mit konsekutivem acuten Nierenversagen (58). Im Gegensatz zu Spermin war bei Versuchen mit Cadaverin, Puttrescin und Spermidin diese stark nephrotoxische Wirkung nicht eingetreten.
De Meis beobachtete, daß Spermin und Spermidin die ATPase-Aktivität an in Glycerin eingebetteten Myofibrillen hemmten (30).

Eine toxische Wirkung des Spermins wurde auch gegenüber einigen Bakterien festgestellt: In höheren Konzentrationen hatte Spermin eine bakterizide Wirkung auf wachsende Kulturen von E.coli, vergleichbar der Wirkungsweise von Streptomycin (59).

2. FRÜHERE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE AUSSCHEIDUNG VON Di- UND POLYAMINEN IM URIN DES MENSCHEN

A. Cystinurie

Untersuchungen über die qualitative und quantitative Ausscheidung der Di- und Polyamine sind bis heute fast ausschließlich auf die Isolierung dieser Substanzen aus dem Urin von Patienten mit Cystinurie beschränkt geblieben, dabei wurde bislang nur Cadaverin und Putrescin gefuncen. Erstmals im Jahre 1889 wurde in der Arbeit v. Udránskys und Baumanns darüber berichtet (7). Nach Fällung der Diamine mit Benzoylchlorid und gravimetrischer Messung bestimmten sie im 24 Std. Urin ihres Patienten Tagesmengen von 0,2 - 0,4 Gramm an Benzoyldiaminen.
Ihre Befunde wurden in der Folgezeit mehrfach bestätigt: Stadthagen u. Brieger (60), Garcia (61), Ackermann u. Kutscher (62) sowie Garrod (63) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. In neuerer Zeit befaßten sich vor allem Milne (10) u. Mitarb. mit solchen Untersuchungen.

Auf der anderen Seite bestritten eine Anzahl von Autoren das regelmäßige Zusammentreffen von Cystinurie und Diaminurie, indem sie bei ihren Patienten mit gesicherter Cystinurie auf der Suche nach Diaminen im Urin erfolglos blieben (63, 64).

Loewy und Neuberg sahen eine Ausscheidung von Cadaverin nur nach vorheriger Aufnahme von Lysin per os. Für eine Putrescin-Ausscheidung war die orale Verabreichung von Arginin Voraussetzung (64). Das veranlaßte Garrod zu einem Kontrollexperiment, bei welchem sich jedoch kein Zusammenhang zwischen der Diaminurie seines Patienten und der oralen Belastung mit den genannten Aminosäuren ergab (63).

Die Angaben über die täglich ausgeschiedenen Mengen an Cadaverin und Putrescin sind nur unter dem Vorbehalt der verhältnismäßig groben Untersuchungsmethoden zu verwerten. Die meisten der früheren Autoren wiesen jedoch aus-

drücklich darauf hin, daß die Tagesmengen erheblichen quantitativen Schwankungen unterlagen.

B. Andere Krankheiten, normale Individuen

Bei normalen Probanden ließen sich nach der übereinstimmenden Aussage aller früherer Untersucher keine Diamine nachweisen, jedenfalls sofern es sich um Urinmengen aus höchstens 24stündigen Sammelperioden handelte (7, 60, 63, 64, 65). In 100 Litern Normalurin konnte Dombrowski nur Spuren von Cadaverin nachweisen (63).

Nur spärliche Befunde liegen vor über das Zusammentreffen von Diaminurie mit anderen Erkrankungen: Hunter beobachtete eine Cadaverin-Ausscheidung bei einem Fall von perniciöser Anämie (63), während Brieger (1) und Roos (63) in einigen Fällen von Dysenterie und Cholera nostra Cadaverin im Urin nachweisen konnten.

In den letzten Jahren wurde neben Cadaverin und Putrescin 2,2'-Dithiobis (äthylamin), das Decarboxylierungsprodukt von Cystin, im Urin von Kindern gefunden (66). Dabei wurden die Amine aus einer größeren Menge Urin an Kationenaustauschern angereichert.

Über eine Ausscheidung von 1,3-Diaminopropan, Spermin und Spermidin im Urin sind bisher keine Angaben in der Literatur zu finden.

3. FRAGESTELLUNG

In den Arbeiten der früheren Autoren kamen vorzugsweise Methoden zur Anwendung, die das Vorhandensein größerer Mengen an Di- und Polyaminen voraussetzen, um genaue quantitative Ergebnisse zu erzielen. Die Konzentration dieser Amine liegt jedoch, wenn sie überhaupt vorkommen, unter jener Konzentration, bei der infolge der Löslichkeitsverhältnisse Präcipitationsmethoden erfolgreich sein können.
Neuerdings wurden chromatographische Methoden entwickelt, die die Abtrennung der Diamine von anderen Aminen sowie die Trennung der Di- und Polyamine untereinander ermöglichen und zur Identifizierung der isolierten Substanzen eingesetzt werden können (24, 66, 67).

Systematische Untersuchungen über die Ausscheidung von Di- und Polyaminen im Urin bei gesunden Personen verschiedener Altersstufen mit den neueren Methoden, die eine Konzentration von 0,1 µMol pro 100 ml Urin zu erfassen gestatten, liegen bisher nicht vor. Außerdem wurde niemals die Ausscheidung unter pahtophysiologischen Bedingungen untersucht.

1. In dieser Arbeit wird über systematische Untersuchungen von Urinproben gesunder Kinder aller Altersstufen und von gesunden Erwachsenen berichtet.

2. In einer weiteren Gruppe wurden Urinanalysen bei 3 Patienten mit Cystinurie durchgeführt.

3. Aus unserer Klinik wurde neben der Cystinurie über ein weiteres Krankheitsbild berichtet, eine Cystinlysinurie kombiniert mit Enteropathie, das bei 4 von 8 Geschwistern einer Familie beobachtet werden konnte. 2 dieser Kinder wurden in die Untersuchungsreihe miteinbezogen.

4. Ferner wurde eine Gruppe von 11 Kindern mit Vitamin D-Mangelrachitis und/oder Hypocalcämie systematisch auf das Vorhandensein von Di- und Polyaminen im Urin untersucht.

5. Bei Typ I der Cystinurie liegt eine spezifische Malabsorption der Diaminosäuren vor. Da durch die Resorptionsstörung vermehrt Lysin und Arginin in die tieferen Darmabschnitte gelangen, könnte dieses zusammen mit der vermehrten bakteriellen Decarboxylierung der Aminosäuren die Ursache für die vermehrte Entstehung und Ausscheidung der Diamine sein. Wir untersuchten deshalb auch Patienten mit allgemeiner Malabsorption auf dem Boden einer Coeliakie oder Mukoviscidose, da bei ihnen ebenfalls vermehrt Eiweiß und Aminosäuren in die tieferen Darmabschnitte gelangen und dem bakteriellen Abbau unterliegen.

6. Kinder mit schweren Enteritiden leiden ebenfalls an einer enteralen Eiweißverwertungsstörung. Sie wurden auch deshalb untersucht, weil uns der Einfluß von Infektionen des Darmtraktes auf die Di- und Polyaminurie interessierte.

II. PROBANDEN

Gruppe I

Normale Kinder aller Altersstufen, -Erwachsene

1. Frühgeborene

Bei den Frühgeborenen handelte es sich um acht 2 bis 11 Tage alte, männliche Kinder mit einem Gewicht zwischen 1780 und 2500 g, die keine Aufzuchtschwierigkeiten machten. Eines dieser Kinder hatte in den ersten Lebenstagen an einem Atemnotsyndrom gelitten. Es wurde jeweils ein Tagesurin gesammelt. Die Kinder erhielten am 10. Lebenstag mit der Nahrung etwa 4 - 5 g Eiweiß pro kg Körpergewicht und Tag.

2. Neugeborene

Es wurden Tagesurine von fünf reifen Neugeborenen gesammelt, die 2 bis 16 Tage alt und 2790 - 3930 g schwer waren. Die Neugeborenen waren zum Zeitpunkt der Untersuchung gesund. Sie wurden mit einer eiweißreichen, fettarmen Diätmilch ernährt.

3. Säuglinge

Die Urine der Kinder aus dieser Gruppe stammten von sieben 1 - 3 Monaten alten Säuglingen, die wegen verschiedener Krankheiten (Leistenhernien, Hydrocephalus, fieberhafter Infekt der oberen Luftwege) in die Klinik eingeliefert worden waren. Zum Zeitpunkt der Urinsammlung waren sie wieder gesund. Alle erhielten eine 2/3 Milch.

4. Kleinkinder

Untersucht wurden 6 Tagesurine von 6 gesunden Kleinkindern (2 - 5 Jahre alt, Kinder von Klinikpersonal).

5. Erwachsene

Es handelte sich um 10 Tagesurine von gesunden, jungen Erwachsenen (Laborpersonal). Besondere diätetische Einschränkungen wurden ihnen nicht auferlegt.

Gruppe II

Kinder mit enteraler Eiweißverwertungsstörung

1. Malabsorption, Maldigestion

Es wurden 5 Urine von Kindern untersucht, die an einer schweren allgemeinen Malabsorption mit und ohne Glutenunverträglichkeit litten. Die D-Xyloseausscheidung im Urin nach oraler Xylosebelastung lag bei ihnen unter 10% der oral zugeführten Menge. Ein weiteres Kind hatte eine Maldigestion infolge einer Mukoviscidose. Es erhielt zum Zeitpunkt der Untersuchung keine Fermentsubstitution.

2. Schwere Dyspepsie und Toxikose

Die Säuglinge dieser Gruppe litten an einer bakteriell bedingten Enteritis mit zum Teil beträchtlichen Wasser- und Elektrolytverlusten. Einige dieser Kinder zeigten deshalb Symptome einer Toxikose an denen eines der Kinder bald nach der Einlieferung in die Klinik starb. Untersucht wurde die erste Urinprobe nach der Klinikeinlieferung, vor Beginn einer Antibiotika-Behandlung, jedoch im allgemeinen nach Beginn einer Wasser- und Elektrolytsubstitution. Es handelte sich um 8 Urine von Säuglingen, die 10 Tage bis 9 Monate alt waren.

Gruppe III

Kinder mit florider Vitamin-D-Mangelrachitis

Die 10 Urine von 9 Säuglingen mit florider Rachitis (Vitamin D-Mangel) wurden vor Einleitung einer Vitamin D-Behandlung gesammelt. Als diagnostische Kriterien für die floride Rachitis dienten eine erhöhte Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum, eine Craniotabes, röntgenologisch nachgewiesene Epiphysenveränderungen an der dista-

len Radius- und Ulnaepiphyse sowie eine Hyperaminoacidurie. Eines dieser Kinder hatte eine Hypocalcämie (5,1 mg%). Es konnte nicht in jedem Fall ein Tagesurin gesammelt werden.

Gruppe IV

Kinder mit Cystinurie

21 bzw. 5 Tagesurine von 2 Patienten (7 und 12 Jahre alt), die eine Cystinurie vom Typ I hatten, wurden gesammelt. Beide Patienten hatten eine Steinanamnese. Sie schieden mit dem Stuhl vermehrt Cadaverin und Putrescin aus, wiesen jedoch keine Symptome allgemeiner Malabsorption auf. Die Eltern dieser Patienten zeigten quantitativ eine normale Ausscheidung von Lysin und Cystin im Urin. Zwei weitere Urine stammten von einer 42 Jahre alten debilen Frau, die chemisch die Symptome einer klassischen Cystinurie mit massiver Ausscheidung von Cystin, Lysin, Arginin und Ornithin bot. Eine Steinbildung in den ableitenden Harnwegen war bislang nicht bemerkt worden. Da weitergehende Untersuchungen nicht möglich waren, konnte der Typ der Cystinurie nicht geklärt werden. Eine Pyurie hatte keiner dieser Patienten.

Gruppe V

Kinder mit Cystinlysinurie, kombiniert mit Enteropathie

Wir beobachteten 3 Patienten, die eine Cystinlysinurie mit Enteropathie aufwiesen (3 von 8 Kindern einer Familie). Die Cystinlysinurie war bei den betroffenen Kindern immer mit einer Enteropathie gekoppelt. Die Cystin- und Lysinausscheidung sowie die Aminosäureclearance entsprachen den Befunden, wie sie bei den Heterocygoten von Typ II und III der Cystinurie zu finden sind. Die Enteropathie manifestierte sich klinisch in einer schweren exsudativen Enteropathie, einer allgemeinen Malabsorption (erniedrigte Xyloseausscheidung im Urin nach oraler Belastung, verminderter Fettresorptionsindex); histologisch zeigte sich im Jejunum und Ileum eine atrophe Enteritis ähnlich der bei der gluteninduzierten Enteropathie, die jedoch von kurzen Abschnitten mit normaler Mukosa unterbrochen wurde. Eine Glutenunver-

träglichkeit bestand nicht. Die Eltern der Patienten wiesen eine normale Cystin- und Lysinausscheidung auf. Es scheint sich bei dieser Krankheit um eine sowohl von der Cystinurie als auch den bisher bekannten Enteropathien abgrenzbares Syndrom zu handeln.
Die Diaminausscheidung wurde bei zwei dieser Kinder an 3 bzw. an 7 Tagen bestimmt. In der Tab. 9 sind nur die Werte der Cadaverin- und Putrescinausscheidung angegeben.

III. MATERIAL UND METHODE

Cadaverinhydrochlorid, Putrescinhydrochlorid und 2,2'-Dithiobis(äthylamin) wurden von Calbiochem, Los Angeles, bezogen. 1,3-Diaminopropan, Spermidin und Spermin waren Produkte der Fa. Schuchart, München.
Die Austauscherharze Dowex 50 x 2,100 - 200 mesh, H^+Form, Dowex 50 x 8,200 - 400 mesh, H^+Form und Amberlite IRP 64, Gegenion K^+, wurden von der Fa. Serva, Heidelberg bezogen.
Zur Dünnschichtchromatographie wurden Fertigplatten der Fa. Merck, Darmstadt, gekauft, die als Sorptionsmittel Kieselgel F 254 nach Stahl bzw. Cellulose F enthielten.
Teilweise wurden auch Platten mit dem Desaga-Streichgerät selbst hergestellt, dazu wurde Kieselgel F 254 nach Stahl der Fa. Merck, Darmstadt bzw. MN-Cellulose Pulver der Fa. Macherey, Nagel und Co, Düren/Rhein verwendet.

Die übrigen Chemikalien waren von p.a. Qualität.

A. Anreicherung der Di- und Polyamine an Dowex 50 x 2

Die Urine wurden innerhalb einer 24stündigen Sammelperiode über je 5 ml Chloroform und Toluol bei 4° C gesammelt und bis zur Analyse bei -21° C tiefgefroren aufbewahrt. Vor der Aufbereitung wurden durch Zentrifugieren und Filtration Trübungen entfernt und der Kreatiningehalt nach Jaffe bestimmt.

Für die Anreicherung und Trennung der Di- und Polyamine wurde nach der von Holder und Bremer (67) angegebenen Methode verfahren, die in einigen Punkten ergänzt oder modifiziert werden konnte. Zur Identifizierung wurden einige neue Trennsysteme zur Dünnschichtchromatographie der freien Di- und Polyamine erprobt.

Je 100 ml Urin wurden nach Reinigung auf pH 5 eingestellt und über eine Säule (15 x 1 cm) mit Dowex 50 x 2,100 - 200 mesh, H^+Form, gegeben. Das Harz war nach der Vorschrift von Kakimoto und Armstrong (68) mit folgenden Lösungen

vorbehandelt worden: Aceton, 2n NaOH, 2n HCL, 1n NH_3 in 65% Athanol, 2n HCL, jeweils alternierend mit H_2O. Zum Schluß wurde mit H_2O nachgewaschen, bis das Effluent pH 5 erreicht hatte.
Nach der Urinpassage wurde die Säule mit ca. 100 ml H_2O nachgewaschen, danach mit 10 ml 6n HCl eluiert. Das Eluat wurde im Rotationsverdampfer zur Trockne eingeengt.

B. Säulenchromatographische Trennung

Die Trennung der Di- und Polyamine erfolgte an einer Amberlite IRP 64-Säule. Das Harz wurde durch Waschen mit 4n HCl und Aquilibrieren mit 1n KOH in die K^+Form überführt. Es wurde solange mit H_2O nachgewaschen, bis das Effluent neutral war. Das Harz wurde im Vakuum bei 40° C entgast und in eine Säule gefüllt. Die Ausmaße der Säule betrugen 0,9 x 30 cm. Eine Temperierung der Säule erwies sich als überflüssig. Zum Beschicken der Amberlite-Säule wurde das Eluat der Dowex 50 x 2 Säule in 20 ml H_2O aufgenommen, mit einigen Tropfen 1n KOH auf pH 7 gebracht und mit einer Schlauchpumpe durch die Säule gepumpt. Danach wurde die Saule mit etwa 100 ml H_2O nachgewaschen.

Zur Gradienten-Elution wurde eine 3 molare KCl-Lösung in 0,1 molarem Kaliumphosphatpuffer von pH 7 verwendet. Eine gute Trennung der Di- und Polyamine wurde mit einem Konvexgradienten erreicht, der folgendermaßen hergestellt wurde:
In einem geschlossenen Mischgefaß mit 200 ml H_2O wurde die kontinuierlich zuströmende gepufferte KCl-Lösung mittels eines Magnetrührers gleichmäßig vermischt. Von der Mischflasche aus wurde die Lösung mit einer Schlauchpumpe auf die Säule gepumpt. Dabei wurde ein annähernd konstantes Durchflußvolumen von 30 ml pro Stunde erreicht.

Die Bedingungen zur genauen Herstellung des Gradienten und zur Erzielung eines absolut konstanten Durchflußvolumens von 30 ml/h konnten später durch Verwendung der Beckman-Gradientenpumpe, Modell 131, verbessert werden. Eine Trennung von Testsubstanzen unter Verwendung der Beckman-Gradientenpumpe zeigt die Abb. 1. Die Pumpe erwies sich in der erreichbaren Trennschärfe bei genauester Reproduzierbarkeit der Elutionsbedingungen dem zuerst beschriebenen System überlegen.

Es wurden Fraktionen von je 4 ml gesammelt. Die früher beschriebene Umschaltung auf Direktelution mit gesättigter KCl erwies sich als überflüssig, da Spermin unter den beschriebenen Bedingungen ebenfalls nach 500 ml Fraktionsvolumen eluiert werden konnte.

C. Quantitative Bestimmung der Di- und Polyamine

Zur Überführung der Amine in ihre Dinitrophenylderivate wurde nach der von Rosenthal und Tabor (25) angegebenen Methode verfahren. Je 2 ml Fraktionsvolumen wurden mit folgenden Reagentien versetzt: 0,5 ml Natriumtetraborat in gesättigter Lösung, 0,25 ml einer 1,3%igen Lösung von 1-Fluor-2,4-Dinitrobenzol in Aceton.
Die Farbentwicklung unter Bildung der Dinitrophenylderivate der Amine erfolgte durch Erhitzen der Lösung für 10 Min. auf 60° C. Anschließend wurde mit 0,5 ml 5n HCl das überschüssige 1, -Fluor-2-4-Dinitrobenzol entfärbt. Die Dinitrophenylderivate der Amine wurden in je 2 ml Cyclohexanon extrahiert, durch Zentrifugieren die Phasen getrennt, und die optische Dichte bei 420 nm gemessen. Die Messung erfolgte im PMQ II-Zeiss-Spektralphotometer. Zur Berechnung der Konzentrationen wurden folgende an Testsubstanzen bestimmten mikromolaren Extinktionskoeffizienten bei 1 cm Schichtlänge in 2 ml Cyclohexanon benutzt:

Optische Dichte pro 0,1 Mikromol Substanz:	
Cadaverin	0,627
Putrescin	0,603
1,3-Diaminopropan	0,548
2,2'-Dithiobis(äthylamin)	0,553
Spermidin	0,722
Spermin	0,953

D. Identifizierung der einzelnen Peaks im Säuleneluat nach Trennung an Amberlite IRP 64

1. Dünnschichtchromatographie

a) Identifizierung der Dinitrophenylderivate

Als Sorptionsmittel wurde Kieselgel HF 254 nach Stahl verwendet. Es wurden DC-Fertigplatten der Fa. Merck, Darmstadt, benutzt oder Glasplatten in einer Schichtdicke von 250 nm mit dem Desaga-Streichgerät beschichtet. Plattengröße 20 x 20 cm. Je 0,2 ml der in Cyclohexanon extrahierten Amine wurden zusammen mit Testsubstanzen an der Startlinie punktförmig aufgetragen. Es wurde bei Kammersättigung in folgenden Fließmitteln chromatographiert:

Diäthyläther
Benzol-Pyridin-Eisessig = 65 : 30 : 10
Dioxan-Pyridin-Eisessig = 80 : 20 : 2
Chloroform-Äthanol = 99 : 1

Die Flecken waren bei Tageslicht gelb und fluoreszierten im uv-Licht bei einer anregenden Wellenlänge von 254 nm intensiv. Sofern sich die gelbe Farbe des 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol bei der Auswertung als störend erwies, konnte sie durch Besprühen mit 5n HCl beseitigt werden.

b) Identifizierung der freien Di- und Polyamine

Die freien Amine wurden auf DC-Fertigplatten Cellulose F der Fa. Merck, Darmstadt, chromatographiert. Die Plattengröße betrug 10 x 10 cm. Aufgetragen wurden je nach Konzentration der Amine in der Ausgangslösung 2 - 50 Mikroliter. Zu diesem Zweck bewährten sich auf 1 Mikroliter geeichte Mikropipetten der Fa. Drummond Scientific Co., Broomall, Pa., USA.
Zusätzlich zu dem früher angegebenen Fließmittel Isopropanol-HCl wurden drei weitere Laufmittel erprobt, die eine brauchbare Trennung ermöglichten. Es wurde aufsteigend ohne Kammersättigung in folgenden Lösungen chromatographiert:

Isopropanol-37%ige HCl - H_2O = 80 : 30 : 20
n-Butanol-Dimethylamin-Aceton-H_2O = 10 : 2 : 10 : 5
Isopropanol-Ameisensäure (17%ig)-H_2O = 40 : 2 : 10
Phenol-Ameisensäure (17%ig)- = 75 : 25

Die Platten wurden mit Nynhydrin-Sprühreagenz, 0,1% der Fa. Merck, Darmstadt, angefärbt. Zur Farbentwicklung wurden die Platten 10 Min. lang bei 60° C erhitzt.
1,3-Diaminopropan färbte sich unterschiedlich zu der violetten Farbe aller übrigen Di- und Polyamine in einem bräunlich violetten Farbton mit deutlicher Fluorescenz.
Die so gefundenen Rf-Werte für Testsubstanzen zeigt die Tab. 12.

Verfahren zur Entsalzung der Peaks von der Amberlite IRP 64 Säule

Voraussetzung für die oben beschriebene Chromatographie der freien Amine war eine vorherige Entsalzung. Zu diesem Zweck wurden die Amine folgendermaßen extrahiert: Die entsprechenden Peaks der Amberlite IRP 64-Säule wurden jeweils vereinigt, auf pH 10 mit Natriumboratpuffer, 0,5 molar, eingestellt, 1/5 Volumen 20%ige Na_2CO_3-Lösung zugegeben und mit NaCl gesättigt. Es wurde dreimal mit der doppelten Menge n-Butanol extrahiert und anschlie-

ßend die Amine aus dem Butanol in 1/3 Volumen 0,3 n HCl überführt. Die HCl-Phase wurde im Rotationsverdampfer zur Trockne eingeengt.
Zur weiteren Verminderung des Salzgehaltes wurde eine Passage über Dowex 50 x 2 angeschlossen. Um dazu diejenige Menge Harz zu ermitteln, bei der die gesammte Substanzmenge gebunden war, wurde das Extrakt nach Aufnahme in 10 ml H_2O und Neutralisation solange mit steigenden Mengen Austauscherharz geschüttelt, bis sich im zentrifugierten Überstand mit der Dinitrophenylierung keine Amine mehr nachweisen ließen. Die einzelnen Schritte wurden dünnschichtchromatographisch auf Kieselgelplatten kontrolliert. Anschließend wurde das Harz in eine Säule mit dem entsprechenden Volumen gefüllt und mit HCl eluiert. Die Konzentration der HCl wurde je nach der unterschiedlich festen Bindung der einzelnen Di- und Polyamine verschieden gewählt.
Die Entsalzung war ferner Vorbedingung der im nächsten Abschnitt beschriebenen weiteren Identifizierungsmethode:

2. Rechromatographie an Dowex 50 x 8

Ein Teil der von Amberlite IRP 64 eluierten Substanzen wurde nach Entsalzen in ca. 20 ml H_2O aufgenommen und neutralisiert. Eine 0,9 x 30 cm große Säule wurde mit Dowex 50 x 8,200 - 400 mesh, H^+Form, gefüllt. Die Elution erfolgte in Anlehnung an Rosenthal und Tabor (24) als Gradientenelution, Elutionslösung 2n HCl, Mischgefäß : 200 ml 1n HCl. Fraktionsvolumina von je 3 ml wurden gesammelt. Zur Bestimmung mußten die Eluate mit einigen Tropfen gesättigter K_2CO_3-Lösung gegen Phenolphthalein als Indikator neutralisiert werden und wurden in die Dinitrophenylderivate überführt.

Die einzelnen Di- und Polyamine wurden in umgekehrter Reihenfolge wie von Amberlite IRP 64 eluiert. Überprüfung mittels Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel-Platten.

3. Bestimmung der Absorptionsquotienten von 350 nm zu 390 nm der Dinitrophenylderivate in Dioxan nach Dubin (25)

Die Absorptionsquotienten der Mono-Di- und Polyamine der 2,4-Dinitrophenylderivate sind verschieden, so daß ihre Bestimmung eine approximative Zuordnung zu einer dieser Gruppen gestattet.
Reagenz 1 : 1,3%iges 1-Fluor-2,4-Dinitrobenzol wurde in Aceton gelöst und im

Verhältnis 1 : 10 gemischt mit 0,66 molarem Natriumtetraborat.
(= 25 g $Na_2B_4O_7$ x 10 H_2O ad 1000 H_2O)
Reagenz 2 : 1,5 ml 25%ige HCl gelöst in 100 ml Dioxan.
Zur Bestimmung wurde ein 0,15 ml Aliquot aus der Peakmitte verwendet, gleichzeitig als Leerwert die gleiche Menge Fraktionsvolumen aus demselben Lauf aus einer Position unmittelbar vor dem Peak.
Zu diesen Proben kamen 0,1 ml Reagenz 1 hinzu, anschließend Erhitzen im Wasserbad auf 60° C für 10 Minuten. Nach Abkühlen wurden 3 ml Reagenz 2 hinzugefügt und zentrifugiert. Die optische Dichte bei 350 nm und 390 nm wurden im PQM II Zeiss Spektrophotometer gemessen.
Der Quotient wurde folgendermaßen gebildet:

$$Q = \frac{\text{Ext. } 390 \text{ nm}}{\text{Ext. } 350 \text{ nm}}$$

Zum Vergleich wurde eine Probe mit Testsubstanzen angesetzt.

4. Hydrolyse der aus dem Urin extrahierten Substanzen

In Bakterien können N-Acetylderivate der Polyamine vorkommen (s.o.), die säulenchromatographisch im Bereich der Diamine eluiert werden.
Um auszuschließen, daß die aus dem Urin isolierten Verbindungen N-Acetylderivate der Polyamine sind, wurden je ein Aliquot der Peaks II - V in 6 n HCl 12 Stunden bei 105° C in zugeschmolzenen Ampullen hydrolysiert. Nach Einengen der Salzsäure wurden die Substanzen in 2,4-Dinitrophenylderivate umgewandelt, in Cyclohexanon extrahiert, auf Kieselgel HF 254 Platten aufgetragen und mit den 4 weiter oben angegebenen Fließmitteln chromatographiert.
Die Hydrolyse veränderte die Rf-Werte nicht, sie stimmten auch weiterhin mit denen von Testsubstanzen überein.

T a b e l l e 1

F r ü h g e b o r e n e

Nr.	Proband	Alter	Gewicht	Diagnose	Cadaverin		Putrescin	
					µMol/100ml	µMol/mg Kreatinin	µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin
1	T.G.	4 Tg.	1780 g	gesund	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1
2	J.E.	11 Tg.	1920 g	Mangelzwilling	" "	" "	" "	" "
3	R.G.	2 Tg.	2310 g	gesund	1,605	0,0429	1,318	0,0331
4	J.F.	10 Tg.	2090 g	gesund	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1
5	D.P.	11 Tg.	2620 g	Atemnotsyndrom	0,2818	0,0116	" "	" "
6	R.B.	6Tg.	2510 g	gesund	0,4979	0,0819	0,1402	0,02306
7	M.R.	6 Tg.	2200 g	gesund	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1
8	F.E.	4 Tg.	2140 g	gesund	" "	" "	" "	" "

Tabelle 2

Neugeborene

Nr.	Proband	Alter	Gewicht	Diagnose	Cadaverin		Putrescin	
					µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin	µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin
1	W.S.	10 Tg.	2760 g	Krämpfe	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1
2	G.D.	9 Tg.	2910 g	Mißbildungen	" "	" "	" "	" "
3	C.K.	2 Tg.	2740 g	Mißbildungen	0,1384"		" "	" "
4	S.K.	16 Tg.	3930 g	Ikterus prolomg.	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1
5	K.B.	12 Tg.	2690 g	Cardia-Insuffiz.	" "	" "	" "	" "

Tabelle 3

Säuglinge

Nr.	Proband	Alter	Gewicht	Diagnose	Cadaverin		Putrescin	
					µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin	µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin
1	A.C.	3 Mon.	6080 g	Fieberhafter Infekt	0,1658	0,00328	unter 0,1	unter 0,1
2	T.S.	6 Wch.	4310 g	Racheninfekt	0,2488	0,00431	" "	" "
3	G,B.	1 Mon.	4020 g	Phenylketonurie	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	" "
4	E.A.	24 Tg.	4250 g	Ikterus prolongat.	" "	" "	" "	" "
5	B.G.	20 Tg.	4310 g	Myelocele	" "	" "	" "	" "
6	K.L.	3 Mon.	4860 g	Leistenhernien	" "	" "	" "	" "
7	K.K.	2 Mon.	5750 g	Hydrocephalus	5,419	0,1682	0,1751	0,0543

Tabelle 4

Malabsorptions-Syndrom

Nr.	Proband	Alter	Gewicht	Diagnose	Cadaverin		Putrescin	
					µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin	µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin
1	R.S.	7 Mon.	5490 g	Mukoviscidose	unter 0,1	unter 0,1	0,245	0,005
2	P.B.	5 Mon.	4900 g	Malabsorption	" "	" "	"	"
3	K.Z.	5 Mon.	4510 g	Malabsorption	" "	" "	"	"
4	C.R.	3 J.	11 Kg	Coeliakie	" "	" "	"	"
5	K.F.	5 J.	13 Kg	Malabsorption	0,235	0,0133	0,3582	0,0234
6	W.W.	4 Mon.	5930 g	Malabsorption	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1

Tabelle 5

Schwere Dyspepsie und Toxikose

Nr.	Proband	Alter	Gewicht	Diagnose	Cadaverin		1,3-Diaminopropan	
					µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin	µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin
1	B.N.	5 Mon.	5810 g	Toxikose	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1
2	B.S.	3 Mon.	4980 g	Dyspepsie	" "	" "	" "	" "
3	K.E.	9 Mon.	8200 g	Toxikose	0,4807	0,0369	0,1518	0,0116
4	H.M.	1o Tg.	3350 g	Dyspepsie	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1
5	p.R.	6 Mon.	6250 g	Dyspepsie	" "	" "	" "	" "
6	S.V.	4 Mon.	4300 g	Dyspepsie	0,171	0,013	" "	" "
7	K.F.	6 Mon.	7720 g	Toxikose	unter 0,1	unter 0,1	" "	" "
8	G.V.	5 Wch.	4260 g	Dyspepsie	" "	" "	" "	" "

Tabelle 6

Rachitis, Hypocalcämie

Nr.	Proband	Alter	Gewicht	Diagnose	Ca^{++} mg%	Cadaverin		Putrescin	
						µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin	µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin
1	S.S.	3 Mon.	6200 g	Rachitis	10	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1
2	F.R.	7,5 Mon.	5400 g	Rachitis	9,7	0,1807	0,0069	"	"
3	W.K.	5 Mon.	7040 g	Rachitis	10	unter 0,1	unter 0,1	"	"
4	H.L.	2 Mon.	4560 g	Rachitis	?	"	"	"	"
5a	B.Z.	4 Mon.	6500 g	Rachitis	10,7	0,1708	0,0278	0,152	0,152
b						4,2700	0,690	unter 0,1	unter 0,1
6	E.H.	5 Mon.	6820 g	Rachitis	?	1,1540	0,0952	"	"
7	F.S.	3 Mon.	5950 g	Rachitis	?	4,6140	0,157	"	"
8	P.L.	10 Wch.	4760 g	Rachitis	5,1	0,2577	0,0103	"	"
9	K.S.	7 Mon.	8430 g	Rachitis	8,5	0,1687	0,0085	"	"
10	S.K.	11 Mon.	9760 g	Fanconi-S.	?	0,1201	0,0189	"	"
11	DK.	4 Mon.	5500 g	Rachitis	5,7	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1	unter 0,1

Tabelle 7

Cystinurie, M. R., sieben Jahre

Tag	angereicherte Urinmenge ml	Cystin-probe	Cadaverin		Putrescin	
			µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin	µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin
11.4. 65	20	++	51,20	0,9176	0,640	0,019
12.4. 65	20	++	28,60	0,827	0,387	0,011
13.4.65	20	+	–	–	–	–
16.7. 65	20	++	3,255	0,1053	0,434	0,016
17.7. 65	20	+++	–	–	–	–
20.7. 65	20	++	12,82	0,7122	0,97	0,0536
14.12.65	100	++++	0,1576	0,0015	0,1218	0,0011
15.12.65	100	++++	–	–	–	–
16.12.65	100	+++	0,0254	0,0007	0,0514	0,0015
17.12.65	100	+++	–	–	0,0456	0,0002
18.12.65	100	+++	–	–	0,143	0,0020
19.12.65	100	+++	0,0564	0,0010	0,1002	0,0017
20.12.65	100	++	0,0816	0,0044	0,194	0,0105
21.12.65	100	+	–	–	–	–
12.1. 66	100	+	–	–	0,0652	0,0023
13.1. 66	100	+	0,021	0,0010	0,041	0,0019
14.1. 66	100	+++	–	–	–	–
15.1. 66	100	+	0,019	0,0010	0,0476	0,0025

Tabelle 8

Cystinurie, F. R. , zwölf Jahre

Tag	angereicherte Urinmenge ml	Cystin-probe	Cadaverin		Putrescin	
			µMol/100ml	µMol/mg Kreatinin	µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin
März 65	100	-	-	-	-	-
11.1.66	100	++	0,0316	0,0019	0,126	0,00768
12.1.66	100	+++	-	-	-	-
13.1.66	100	+++	-	-	-	-
14.1.66	50	+++	-	-	0,0504	0,00234
Cystinurie, G. U. , 44 Jahre						
Februar 66	50	++	1052,8	nicht bestimmt	0,895	nicht bestimmt
17.3.66	50	+++	52,60	"	-	"
21.4.66	85	++	114,50	"	2,31	"

Tabelle 9

Cystin-Lysinurie, mit Enteropathie, M. V.

Tag	angereicherte Urinmenge ml	Cadaverin		Putrescin	
		µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin	µMol/100 ml	µMol/mg Kreatinin
18.4.66	100	43,2	1,11	0,790	0,02
22.4.66	100	0,615	0,031	0,229	0,0114
25.4.66	100	35,416		1,306	
27.4.66	100	-	-	3,197	0,1139
9.5.66	100	3,55	0,635	0,208	0,0372
14.5.66	100	0,21	0,015	0,208	0,0372
Cystin-Lysinurie mit Enteropathie, E. V.					
12.9.66	100	0,514	0,011	-	-
20.9.66	100	0,093		-	-
28.9.66	100	0,109	0,0024	-	-

IV. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Bestimmung der Di- und Polyamine im Urin bei den einzelnen untersuchten Gruppen sind aus den Tabellen 1 - 9 ersichtlich.

I. In der Gruppe der normalen Kinder fand sich eine geringe Ausscheidung von Cadaverin bei 3 von 8 untersuchten Frühgeborenen, 2 dieser Kinder schieden gleichzeitig geringe Mengen Putrescin aus (Tab. 1).
Bei Neugeborenen war nur in einem Falle eine geringfügige Putrescin-Ausscheidung nachweisbar (Tab. 2).
In der Säuglingsgruppe ließen sich bei 3 von 7 Kindern kleine Mengen Cadaverin im Urin nachweisen, eines dieser Kinder hatte gleichzeitig Putrescin im Urin (Tab. 3).
Bei gesunden Kleinkindern und Erwachsenen konnte keine Di- und Polyaminausscheidung festgestellt werden.

II. In der Gruppe der kranken Kinder ist das Ergebnis der einzelnen Untersuchungsreihen sehr unterschiedlich.
Bei Kindern mit Dyspepsie fand sich nur bei 2 der 8 untersuchten Fälle eine niedrige Ausscheidung von Cadaverin, in einem Fall von tödlich endender Enteritis mit Toxikose wurden neben Cadaverin geringe Mengen 1,3-Diaminopropan im Urin ausgeschieden (Tab. 4).
Ebenso war bei Kindern mit Malabsorption nur bei 2 Patienten eine Ausscheidung dieser Substanzen vorhanden: Ein 5jähriger Knabe schied geringe Mengen Cadaverin und Putrescin aus, und ein 7 Monate alter Junge mit Mukoviscidose eben nachweisbare Mengen Putrescin (Tab. 5).
Die beiden zuletzt genannten Gruppen zeigten somit keine wesentlichen Unterschiede im Vergleich zu gesunden Kindern, die Ausscheidung von Di- und Polyaminen kam jeweils nur bei 1 - 2 Probanden vor und lag dann im Bereich kaum nachzuweisender Mengen.

Auffallend im Vergleich dazu ist das Ergebnis in der Reihe der Patienten mit florider Rachitis. Von den 11 Patienten war bei 7 Kindern eine Diaminausscheidung nachweisbar, eines der Kinder wurde an zwei Tagen untersucht. Quanti-

tativ lagen die Werte erheblich höher als bei den bislang erwähnten Gruppen, erreichten andererseits nicht so hohe Konzentrationen, wie sie bei der Cystinurie vorkommen können.

Daß Patienten mit Cystinurie Diamine im Urin ausscheiden, ist seit langem bekannt. Unsere Ergebnisse bestätigen frühere Befunde, indem wir bei den betreffenden Kindern große Mengen Cadaverin, weniger Putrescin im Urin fanden. Außerdem konnten wir 1,3-Diaminopropan und Spermidin aus dem Urin dieser Kinder isolieren. In den Tabellen 7 und 8 sind nur die Werte für Cadaverin und Putrescin angegeben. Die von anderen Autoren angegebenen Schwankungen der jeweils pro Tag ausgeschiedenen Mengen waren auch bei unseren Patienten eindrucksvoll, indem bei einem der Patienten Tagesausscheidungen zwischen 31 µ Mol/100 ml Urin und unterhalb 0,1 µ Mol vorkamen.

In Tab. 9 sind die Ergebnisse der von uns untersuchten Geschwister mit Cystinlysinurie und Enteropathie aufgezeigt. Die Diaminausscheidung war quantitativ und qualitativ ähnlich wie bei der Cystinurie, sie war jedoch im Gegensatz zur Cystinurie bei einer solchen Form der Hyperaminoacidurie bisher nicht beobachtet worden.
Neben großen Mengen Cadaverin und kleineren Mengen Putrescin schieden auch diese Kinder in geringem Maße 1,3-Diaminopropan und Spermidin im Urin aus; in einer Urinprobe war auch 2,2'-Dithiobis(äthylamin) vorhanden.
Da über die Ausscheidung von 1,3-Diaminopropan, Spermidin und Dithiobis(äthylamin) im menschlichen Urin bislang keine Angaben gemacht wurden, sollen die Entdeckung dieser Substanzen und einige besondere Maßnahmen zu ihrer Identifizierung im folgenden Abschnitt gesondert beschrieben werden.

Die Identifizierung der ausgeschiedenen Di- und Polyamine stützt sich zunächst auf die Lage der Substanzen bei der säulenchromatographischen Fraktionierung an Amberlite IRP 64. Eine Trennung von 100 ml Urin des Kindes M.V., Cystinlysinurie mit Enteropathie, ist in Abb. 7 dargestellt. Wie daraus ersichtlich, fanden sich außer Cadaverin und Putrescin kleinere Peaks bei Fraktionsvolumina von 350 und 450 ml. Die Mengen waren zu gering für eine quantitative Aussage.

Analog der Elutionsfolge von Testsubstanzen (Abb. 1) entsprachen diese Fraktionsvolumina 1,3-Diaminopropan und Spermidin.
Um die Ausbeute an diesen Substanzen zu vergrößern und eine Identifizierung zu ermöglichen, wurde von sehr großen Urinmengen ausgegangen. Die Einzelportionen aus mehrtägigen Sammelperioden wurden vereinigt und in Mengen von jeweils 2 - 4 Litern nach der oben beschriebenen Methode angereichert und aufgetrennt. Die Größe der Dowex 50 x 2 Säule betrug 3 x 100 cm, die der Amber-

lite IRP 64 Säule 2 x 30 cm.
Das Ergebnis einer Aufbereitung von 2500 ml Urin des Kindes M.V. ist in Abb. 10 dargestellt, es trennte sich noch eine weitere Substanz ab, die in der Gegend von 190 ml Fraktionsvolumen erschien, somit dem 2,2'-Dithiobis(äthylamin) der Testsäule entsprechen würde.
Die so isolierten 5 Substanzen wurden nach den oben beschriebenen Identifizierungsverfahren identifiziert. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen dargestellt.
In Abb. 12 wird das Ergebnis der Rechromatographie an Dowex 50 x 8 demonstriert.
Peak I wurde nur in einer Urinprobe des Kindes M.V. gefunden, so daß nur eine teilweise Identifizierung durchgeführt werden konnte.

Tabelle 10

Dünnschichtchromatographische Trennung der 2,4-DNP-Derivate der Di-und Polyamine aus dem Urin von v.V. nach säulenchromatographischer Trennung auf Amberlite IRP 64 : Sorptionsmittel Kieselgel HF_{254} .

	Dioxan-Pyridin-eisessig 80:20:2	Benzol-Pyridin-Eisessig 65:30:10	Chloroform-Äthanol 99:1	Diäthyläther
DNP-2,2-Dithiobis (äthylamin)	0,71	0,78	0,44	0,12
Peak I	0,71	0,78	0,44	0,14
DNP-Cadaverin	0,76	0,94	0,61	0,15
Peak II	0,77	0,94	0,58	0,14
DNP-Putrescin	0,58	0,79	0,46	0,00
Peak III	0,56	0,80	0,46	0,00
DNP-1,3-Diaminopropan	0,65	0,87	0,25	0,00
Peak IV	0,63	0,85	0,25	0,00
DNP-Spermidin	0,45	0,60	0,18	0,00
Peak V	0,48	0,60	0,18	0,00

T a b e l l e 11

Absorptionsquotienten 350 zu 390 nm der 2,4-Dinitrophenyl-Derivate von Testsubstanzen nach säulenchromatographischer Trennung und der Substanzen der Peaks II-V in Dioxan.(nach Dubin).

DNP-Cadaverin	2,43
Peak II	2,48
DNP-Putrescin	2,25
Peak III	2,34
DNP-1,3-Diaminopropan	2,15
Peak IV	2,20
DNP-Spermidin	1,93
Peak V	1,95

Tabelle 12

Dünnschichtchromatographische Trennung der freien Di-und Polyamine auf Cellulose F-Fertigplatten.Die Peaks der Amberlite-IRP 64-Säule wurden entsalzt und vorher säulenchromatographisch an Dowex 50 x 8 getrennt.

	n-Butanol-Aceton-Dimethylamin-H_2O 40:40:8:20	Isopropanol-Ameisensäure-H_2O 80:40:20	Isopropanol-HCL (37%)-H_2O 80:30:20	Phenol-Ameisensäure(15%) 75:25
Cadaverin	0,71	0,51	0,37	0,89
Peak II	0,69	0,51	0,38	0,88
Putrescin	0,51	0,28	0,35	0,78
Peak III	0,52	0,26	0,37	0,77
1,3-Diaminopropan	0,64	0,23	0,31	0,70
Peak IV	0,62	0,21	0,30	0,72
Spermidin	0,42	0,12	0,22	0,84
Peak V	zu	wenig	Substanz	0,86

V. DISKUSSION

Die Ausscheidung von Di- und Polyaminen im Urin wurde an einer Gruppe gesunder Kinder aller Altersstufen und an gesunden Erwachsenen untersucht. Unsere Ergebnisse stimmen im wesentlichen überein mit den Angaben früherer Autoren, nach denen eine Diaminausscheidung bei gesunden Menschen nicht vorkommt (7, 10, 60, 61, 63, 65).

In Einschränkung dazu fanden wir bei je drei Frühgeborenen und Säuglingen, ferner bei einem Neugeborenen geringe Mengen von Cadaverin, in 4 der Fälle kombiniert mit Putrescin. Verglichen mit unseren und anderen Ergebnissen bei Patienten mit Cystinurie waren diese Mengen so klein, daß sie unberücksichtigt bleiben könnten. Will man jedoch eine Erklärung für die Diaminurie in dieser Gruppe versuchen, so könnte nach exogener Aufnahme oder endogener Entstehung dieser Substanzen eine mangelhafte Ausreifung der für den Abbau zuständigen Fermentsysteme die Ursache sein, in Analogie zu Adaptationsstörungen in anderen Bereichen des Stoffwechsels.

Ebenfalls wäre die Möglichkeit zu bedenken, daß infolge einer mangelhaften Ausreifung aktiver Reabsorptionsmechanismen in den Nierentubuli eine Diaminurie einsetzt, sofern für die Rückresorption der Diamine ein aktiver Transportmechanismus eine Rolle spielt.

Auffällig ist in der Gruppe der stoffwechselgesunden Kinder (Tab. 3) lediglich die stärker vermehrte Ausscheidung bei einem Säugling mit Hydrocephalus, dessen Aminosäureausscheidung leider nicht untersucht wurde.

Die Ausscheidung von Diaminen im Urin bei Vorliegen einer Cystinurie ist auch in unserer Untersuchungsreihe erneut bestätigt worden. Obgleich diese Tatsache, wie erwähnt, von mehreren Autoren bezweifelt wurde, scheint es sich um ein Symptom der Cystinurie zu handeln, das inkonstant auftritt. Es ist unter Berücksichtigung der erheblichen Tagesschwankungen leicht vorstellbar, daß die Beobachtungszeit in negativen Fällen zu kurz war, auch kann man annehmen, daß die verwendeten Methoden zur Darstellung kleiner Mengen zu ungenau waren. Es ist außerdem möglich, daß nur Patienten mit Typ I der Cystinurie (Tubulärer und intestinaler Resorptionsblock) eine Diaminurie zeigen. Zwei unserer Patienten gehörten dem Typ I an, beim dritten Patienten konnten wir den Typ nicht bestimmen, da Verwandtenuntersuchungen nicht möglich waren.

Das häufige Zusammentreffen einer Diaminurie mit der Cystinurie gab Veranlassung, nach dem Ursprung der Diaminurie gerade in diesem Zusammenhang zu fragen. Eine Reihe von Erklärungen sind von früheren Autoren und in neuerer Zeit zu dieser Frage vorgetragen worden.

Die Aussagekraft der älteren Arbeiten wird jedoch außer durch methodische Mängel durch das Fehlen von Vorsorgemaßnahmen zur Hemmung des Bakterienwachstums im Urin vor Beginn der Untersuchung sehr beeinträchtigt. So wäre bei den Experimenten der älteren Autoren der Befund einer Diaminurie vortäuschbar, wenn diese nachträglich im Urin durch bakterielle Decarboxylierung entstanden sind. Demgegenüber wurden aufgrund unserer Ergebnisse Diamine im Urin nachgewiesen, deren nachträgliche Entstehung durch Bakterien ausgeschlossen werden konnte.

Sowohl der Patient v. Udransky's und Baumann's als auch diejenigen von Stadthagen und Brieger (7, 60) litten zum Zeitpunkt der Urinanalysen an einer Harnwegsinfektion mit massiver Pyurie. Daraus ließe sich die Möglichkeit ableiten, daß die Diamine innerhalb der Harnwege durch die Wirkung von Bakterien entstanden sind, oder aus den reichlich vorhandenen Leukocyten stammten, zumal das Vorkommen von Di- und Polyaminen in Blutzellen inzwischen nachgewiesen wurde (24).
Von Udransky und ebenfalls Brieger versuchten einen solchen Zusammenhang auszuschließen durch die Untersuchung von anderen Patienten mit Cystitis und konnten bei diesen niemals Diamine finden. Zur Klärung des causalgenetischen Zusammenhangs zwischen dem angeblich konstanten Zusammentreffen der Cystinurie mit einer Diaminausscheidung war für diese Untersucher die Beobachtung Brieger's (1) ausschlaggebend, daß die betreffenden Substanzen stets durch bakterielle Fäulnis entstünden. Deshalb faßten sie die Cystinurie als Infektionskrankheit auf, für deren Symptome, wie z.B. die Diaminurie, Bakterien verantwortlich seien.

Zu diesen Fragen wurde von Garcia (61) ein weiterer Beitrag geliefert, der den Patienten v. Udransky's nachuntersuchen konnte. Er fand im Urin des Mannes gelegentlich Putrescin, jedoch kein Cadaverin; an manchen Tagen fand er gar keine Diamine. Er vermutete daher eine Beziehung zur Eiweißzufuhr mit der Nahrung und der Entstehung bestimmter Eiweißspaltprodukte im Darm. Durch Diätversuche mit eiweißreicher Kost versuchte er seine Hypothese zu stützen.

Im Jahre 1905 bestritt Bödtker (65) in seinem Beitrag zur Kenntnis der Cystinurie die Fäulnistheorie Baumanns und nahm als Ursache der Cystinurie einen Defekt im Proteinabbau an, demzufolge sich die Diamine als intermediäre Spaltprodukte

vermeht anhäuften und im Urin ausgeschieden würden, während gesunde Menschen sie weiter oxydieren könnten.

Unter einem ähnlichen Gesichtspunkt versuchte Garrod (63) die Pathogenese der Cystinurie zu erklären, indem er sie einordnete unter den Begriff "Inborn error of metabolism". Demnach handele es sich um einen Enzymdefekt, der sich darin manifestiere, daß Lysin und Arginin unverändert oder in Form ihrer Abbauprodukte, d.h. der Diamine, ausgeschieden würden.
Eine Entstehung von Cadaverin und Putrescin infolge bakterieller Zersetzung des Darminhaltes stellte Garrod in Frage, weil er bei seinen Versuchen keine Diaminurie bei Darminfektionen feststellen konnte, und ferner, weil sich aus den Stühlen von Cystinurie-Patienten keine Bakterien züchten ließen, die Diamine produzierten. Die nachträgliche Entstehung im Urin versuchte er durch Analysen von älterem Urin auszuschließen.

Ackermann und Kutscher (62) faßten die Cystinurie ebenfalls als Störung im Aminosäurestoffwechsel auf, nachdem sie bemerkt hatten, daß dabei auch Lysin und Arginin vermehrt im Urin ausgeschieden werden. Sie postulierten, daß Cadaverin und Putrescin infolge des mangelhaften Abbaus dieser beiden Aminosäuren entstünden, unter der Voraussetzung, daß der Warmblüterorganismus zur Decarboxylierung von Aminosäuren ebenso befähigt sei wie die Fäulnisbakterien.

Diese Hypothesen der älteren Autoren wurden erst 1951 durch die Ergebnisse von Dent und Rose (69) widerlegt. Nach ihren Befunden liegt der Cystinurie ein renaler Transportdefekt zugrunde: infolge einer verminderten tubulären Reabsorptionsrate für die dibasischen Aminosäuren Cystin, Lysin und Arginin werden diese vermehrt im Urin ausgeschieden. Nach Dent handelt es sich somit um einen tubulären Stoffwechseldefekt.

Die gleichfalls erhöhte Ornithinausscheidung wurde durch Stein säulenchromatographisch nachgewiesen (70).
Aufgrund dieser Befunde und der strukturellen Ähnlichkeit der 4 Diaminosäuren folgerten Dent und Rose (69), daß sie über einen gemeinsamen tubulären Transportmechanismus rückresorbiert würden. Diese Meinung wird auch heute noch allgemein vertreten (71, 72).

Die Diamine sind in ihrem Aufbau den genannten 4 Aminosäuren sehr ähnlich. So wäre es denkbar, daß sie mit diesen einen gemeinsamen Reabsorptionsmechanismus im Tubulussystem benutzen, so daß sie bei übermäßig hohem Angebot durch kompetitive Hemmung vermindert reabsorbiert werden. Die herabgesetzte Rückresorptionsrate wäre bei Vorliegen einer Cystinurie, bei der der

betreffende Transprotmechanismus gestört ist, auch schon vorstellbar, ohne daß eine vermehrte Diaminbildung im Organismus vorausgesetzt werden müßte. Zur Klärung dieser Frage könnten vielleicht Clearance-Untersuchungen beitragen, bei denen gleichzeitig größere Dosen von z.B. Lysin und Cadaverin intravenös zugeführt würden.

Auf welche Weise die bei der Cystinurie ausgeschiedenen Diamine im Organismus entstehen, ist bislang nicht eindeutig geklärt. Eine endogene Entstehung kann natürlich deshalb infrage gestellt werden, weil die Diaminurie nicht wie die Cystinurie, die Lysinurie, die Argininurie und die Ornithinurie zu den konstanten Symptomen dieser Krankheit gehört.
Auf der anderen Seite fanden Milne und Mitarbeiter (10) 1961, daß bei bestimmten Cystinurie-Patienten neben der renalen Transportstärung eine enterale Malabsorption des Cystins und der Diaminosäuren vorlag.
Die nicht resorbierten Aminosäuren können durch Darmbakterien zu Diaminen decarboxyliert werden. Milne (10) konnte daher Cadaverin und Putrescin im Stuhl der Patienten nachweisen.
Aufgrund weiterer Versuchsergebnisse wurde angenommen, daß die Aminosäure-Decarboxylasen induzierbare Enzyme sind, deren Aktivität durch das Angebot an Substrat sowie durch die Kontaktzeit reguliert wird.
Infolge der angenommenen intestinalen Transportstörung bei Typ I der Cystinurie wären also die Bedingungen gegeben, die einen starken Anstieg der Decarboxylase-Aktivität bewirken und eine vermehrte Bildung von Diaminen im Darm verursachen. In diesem Zusammenhang wäre es nicht ausgeschlossen, daß die gebildete Diaminmenge von der Eiweißzufuhr mit der Nahrung abhängig ist. Das wäre dann eine Möglichkeit, die starken Schwankungen der Diaminausscheidung im Urin zu erklären, vorausgesetzt, daß die vermehrte enterale Bildung von Diaminen im Darm bei Typ I der Cystinurie überhaupt die Ursache der Diaminurie ist.

Zur Erklärung der starken Fluktuation der ausgeschiedenen Mengen gaben Milne u.a. (10) noch einige Hinweise, die von Bedeutung sein könnten:
Die Decarboxylierung benötigt ein bestimmtes pH und Pyridoxalphosphat als Coenzym, ferner muß der körpereigene Diamin-Oxydase-Spiegel niedrig sein, damit die Diamine sich anreichern. Die Lysinaufnahme mit der Nahrung erschien gleichfalls wichtig.

Wie in der Einleitung erwähnt, können aus Cadaverin und Putrescin im Darm die heterocyclischen Amine Piperidin und Pyrrolidin entstehen. Daß diese bei Cystinurie vermehrt im Urin nachgewiesen wurden, spricht ebenfalls für eine vermehrte Bildung solcher Substanzen bei Cystinurie.

Ein ähnlicher Mechanismus der Diaminbildung im Darm wie bei der Cystinurie dürfte auch bei der Cystin-Lysinurie mit Enteropathie vorliegen, wie sie die von uns beobachteten beiden Kinder aufwiesen. Durch die allgemeine Malabsorption bedingt, dürfte auch in diesem Fall eine verstärkte Diaminbildung im Darm vor sich gehen.

In Bezug auf die gesteigerte enterale Diaminbildung bei Typ I der Cystinurie war für uns die Cadaverin- und Putrescinausscheidung bei anderen Krankheiten des Magendarmtraktes und besonders bei Malabsorption und Maldigestion wichtig. Überraschenderweise fanden wir sowohl bei acuten, bakteriell bedingten Darmentzündungen als auch bei chronischen Enteropathien entweder keine oder nur eine sehr geringe Diaminurie.

Diese Befunde machen es wahrscheinlich, daß bei der Cystinurie und bei der Cystin-Lysinurie mit Enterophathie noch andere Faktoren hinzukommen, die für die Diaminausscheidung eine Rolle spielen. Darauf wurde bereits in einem früheren Abschnitt hingewiesen, in welchem die Bedeutung tubulärer Störungen diskutiert wurde.

Bemerkenswert ist unser Ergebnis einer relativ häufigen und starken Diaminurie bei der Vitamin D-Mangel-Rachitis. Diese Rachitisform geht mit einer tubulären Störung einher, die sich in einer allgemeinen Hyperaminoacidurie äußert. Ob die tubuläre Störung auch in diesem Falle die Diaminurie begünstigt, muß noch untersucht werden. Keines der Kinder hatte eine merkliche Störung der Verdauung. Auch ein causalgenetischer Zusammenhang zwischen der Cadaverin- und Putrescinausscheidung und der bei einigen der betreffenden Kinder bestehenden Hypocalcämie konnte nicht geklärt werden.

Neben Cadaverin und Putrescin fanden wir sowohl bei zwei Patienten mit Cystinurie als auch bei den Geschwistern mit Cystin-Lysinurie kombiniert mit Enteropathie noch 1,3-Diaminopropan und Spermidin im Urin. In einer Urinprobe eines der Geschwister war auch 2,2'-Dithiobis(äthylamin), das Decarboxylierungsprodukt von Cystin, vorhanden. Die Ausscheidung dieser zuletzt erwähnten Di- und Polyamine war im Vergleich zu der Cadaverin- und Putrescinmenge gering.

Der Ursprung des im Urin ausgeschiedenen 1,3-Diaminopropan und des Spermidin ist noch völlig unklar. Ihr Vorkommen in fast allen Geweben des Organismus ist bekannt. Beide Amine kommen außerdem in zahlreichen Bakterien vor. Ihr Vorhandensein in den Faeces von Kühen wurde ebenfalls beschrieben.

Eine Ausscheidung dieser Substanzen fanden wir außer bei den genannten Men-

schen auch bei Sprague-Dawley-Ratten. Sie schieden regelmäßig Cadaverin, Putrescin, 1,3-Diaminopropan und Spermidin im Urin aus (73). Durch Unterbindung der Urethra und Untersuchung des Blasenurines konnten wir ausschließen, daß die Substanzen etwa durch den gelassenen Urin aus dem Stuhl der Tiere herausgelöst worden waren. Da der Kotgehalt in Bezug auf diese Amine ziemlich hoch ist, stammen die im Urin bei der Ratte gefundenen Di- und Polyamine vermutlich aus dem Darm.

Ebenfalls im menschlichen Stuhl fanden wir reichlich 1,3-Diaminopropan und Spermidin, und zwar bei der Aufarbeitung eines Stuhles von einem der Kinder mit Cystin-Lysinurie und Enteropathie, ferner von einer Patientin mit einem Lowe-Syndrom (74).

Diese Befunde bei Stuhluntersuchungen von Menschen und Ratten lassen die Möglichkeit offen, daß die von uns aus dem Urin isolierten Polyamine ebenfalls im Darmtrakt entstanden sind.

Eine endogene Entstehung der Polyamine wäre auch denkbar infolge von Zellzerfall körpereigener Zellen, da die Polyamine in reichlicher Menge in fast allen Organen vorhanden sind.

Ebenfalls an eine exogene Entstehung der Polyamine wäre zu denken, da sie als Bestandteile tierischer Gewebe mit der Nahrung aufgenommen werden und eine Störung in ihrem Abbau die Ursache der Ausscheidung solcher Amine im Urin sein könnte.

Wie weit das vermehrt im Organismus vorhandene Putrescin z.B. bei der Cystinurie als Ausgangssubstrat für eine vermehrte Polyamin-Bildung eine Rolle spielt, kann ebenfalls mit unseren derzeitigen Kenttnissen noch nicht geklärt werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die bisherigen Kenntnisse über Vorkommen, Synthese und Abbau sowie über die physiologische und pharmakologische Wirkung der Di- und Polyamine werden dargestellt.

2. Es wird ein Überblick über die bisher veröffentlichten Arbeiten gegeben, die sich mit der Ausscheidung von Di- und Polyaminen im Urin des Menschen befassen.

3. Die von uns verwandte Methode zum Nachweis der Di- und Polyamine (es handelt sich um säulen- und dünnschichtchromatographische Verfahren zur Trennung und Identifizierung) - nach Holder und Bremer, in einigen Punkten modifiziert - wird beschrieben.

4. In Tagesurinen von 26 gesunden Kindern aller Altersstufen und von 10 gesunden Erwachsenen wurde der Gehalt an Di- und Polyaminen bestimmt. 3 Frühgeborene und 3 Säuglinge schieden Spuren von Cadaverin aus, bei 2 Frühgeborenen und je einem Neugeborenen und Säugling fanden wir eben nachweisbare Mengen Putrescin.
Bei gesunden Kleinkindern und Erwachsenen konnte keine Ausscheidung von Di- und Polyaminen im Urin festgestellt werden.

5. a) In einer Gruppe von 8 Patienten mit schwerer bakteriell bedingter Enteritis schieden 2 Kinder geringe Mengen Putrescin im Urin aus, bei einem Fall von tödlich endender Enteritis mit Toxikose waren Spuren von 1,3-Diaminopropan im Urin vorhanden.
b) Bei 5 Kindern mit Malabsorption fand sich in einem Fall eine geringfügige Cadaverin-Ausscheidung, ein anderer Patient hatte etwas Putrescin im Urin.

6. Bei 7 von insgesamt 11 Kindern mit florider Vitamin D-Mangel-Rachitis konnte eine Diaminausscheidung festgestellt werden. Die ausgeschiedenen Cadaverin- und Putrescinmengen lagen wesentlich höher als bei den unter 4. und 5. aufgezeigten Patienten, erreichten jedoch nie so hohe Werte, wie sie bei der Cystinurie vorkommen können.

7. Anhand von Urinanalysen von drei Patienten mit Cystinurie fanden wir die Ergebnisse früherer Autoren bestätigt, indem auch von unseren Cystinurikern große Mengen Cadaverin und Putrescin im Urin ausgeschieden wurden. Die Tagesmengen schwankten zwischen 31 µ Mol/100 ml Urin und unterhalb von 0,1 µ Mol/100 ml Urin.

8. Bei 2 Geschwistern mit Cystin-Lysinurie kombiniert mit Enteropathie fanden wir ein quantitativ und qualitativ ähnliches Ergebnis wie bei der Cystinurie.

9. Neben Cadaverin und Putrescin war im Urin der von uns untersuchten Kinder mit Cystinurie und Cystinlysinurie mit Enteropathie auch 1,3-Diaminopropan und Spermidin im Urin nachweisbar. In einer Urinprobe fand sich außerdem 2,2'-Dithiobis(äthylamin).

10. Die Ergebnisse werden in Bezug auf die möglichen Ursachen des häufigen Zusammentreffens von Cystinurie und Diaminurie diskutiert. Es wird vermutet, daß neben einer vermehrten Diaminbildung im Darm noch tubuläre Faktoren eine Rolle spielen. Die Frage nach der Herkunft des von uns aus dem Urin einiger Kinder isolierten 1,3-Diaminopropan und Spermidin kann mit den bisher gewonnenen Erkenntnissen noch nicht geklärt werden. Aufgrund des Vorkommens dieser Substanzen im Stuhl von Tieren und Menschen wird eine Entstehung im Darmtrakt für möglich gehalten.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Brieger, L.: Ptomaine.
Berl. klin. Wschr. 44, (1887)

2. Guggenheim, M.: Die biogenen Amine.
S. Karger, Basel-New-York, 4. Aufl., 1951

3. Gale, E. F.: The bacterial amino-acid decarboxylases.
Adv. Enzymol. 6, 1, (1946)

4. Herbst, E. J. and Snell, E.: Putrescin and related compounds as growth factors for Haemophilus parainfluenzae.
J. Biol. Chem. 181, 47, (1949)

5. Eigene Beobachtung

6. Wheaton, T. A. and Stewart, J.: Feruloylputrescin: Isolation and Identification from citrus leaves and fruit.
Nature 206, 620, (1965)

7. Von Udransky, L. und Baumann, E.: Über das Vorkommen von Diaminen, sogenannten Ptomainen, bei Cystinurie.
Zschr. Phys. Chem. 13, 562, (1889)

8. Asatoor, H. M.; Lacey, B. W.; London, D. R. and Milne, M. D.: Amino-acid metabolism in Cystinuria.
Clin. Sci. 23, 285, (1962)

9. Tabor, H.: Diamine oxidase.
J. Biol. Chem. 188, 125, (1959)

10. Milne, M. D.; Asatoor, A. M.; Edwards, D. and Loughridge, L. W.: The intestinal absorption defect in Cystinuria.
Gut 2, 232, (1961)

11. Von Euler, U. S.: The occurence and determination of piperidin in human and animal urine.
Acta Pharmacol. 1, 29, (1945)

12. Nordenström, B.E.W.: Effect of cadaverine and lysine on the urinary excretion of piperidine in rabbits.
Acta Pharmacol. and Toxicol. 7, 287, (1951)

13. Morris, D.R. and Pardee, A.B.: Multiple pathways of putrescine biosynthesis in E.coli.
J.Biol.Chem. 241, 3129, (1966)

14. Michaels, R. and Kim, K.H.: Comparative studies of putrescine degradation by microorganisms.
Biochim.Biophys.Acta 115, 59, (1966)

15. Southren, A.L.; Kobayashi, Y.; Brenner, P. and Weingold, A.B.: Diamin oxidase activity in human maternal and fetal tissues at parturition.
J.Appl.Physiol. 20, 1048, (1965)

16. Hanke, M.T. and Koessler, K.K.: Studies on proteinogenous amines.
J.Biol.Chem. 59, 855, (1924)

17. Veeragraphavan, N.; Kalyanaraman, V. and Visalakshi, V.K.: Role of pentamethylenediamine (cadaverine) in experimental Cholera infection.
Ind.J.Med.Res. 54, 117, (1966)

18. Johnston: The toxic effect of amines.
J.Infect.Dis. 42, 473, (1928)

19. Parrot: La fixation de l'histamine par les tissues du Cobaye. Sa liberation par une diamine.
Compt.rend.Soc.Biol. 142, 631, (1948)

20. Leeuwenhoek, A.: Observationes D. Antonii Leeuwenhoek, de natis e semine genitali animaculis.
Phil.trans.Roy.Soc. London 12, 1042, (1678)

21. Böttcher: Farblose Kristalle eines eiweißartigen Körpers, aus dem menschlichen Sperma dargestellt.
Arch.Path.Anat. 32, 525, (1865)

22. Schreiner, Ph.: Über eine neue organische Base in tierischen Organismen.
Liebigs Ann.Chem. 194, 68, (1878)

23. Rosenheim, M.C.: J.Physiol. 51 (1917), zit. bei Guggenheim (2)

24. Rosenthal, S.M. and Tabor, C.W.: The pharmacology of spermine and spermidine. Distribution and excretion.
J.Pharmacol.Exptl.Therap. 116, 131, (1956)

25. Dubin, D. T.: The assay and characterisation of Amines by means of 2,4-Dinitrofluorobenzene.
J. Biol. Chem. 235, 783, (1960)

26. Fischer, F. G. und BohnH.: Die Giftsekrete der Vogelspinnen.
Liebigs Ann. Chem. 603, 232, (1957)

27. Zillig, W.; Krone, W. und Albers, M.: Untersuchungen zur Biosynthese der Proteine III. Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung der Ribosomen.
Hoppe Seyler's Zschr. Physiol. Chem. 317, 131, (1959)

28. Shimizu, H.; Kakimoto, Y. and Sano, I.: The determination and distribution of polyamines in mammalian nervous system.
J. Pharmacol. Exptl. Therap. 143, 199, (1964)

29. Perry, Th. L.; Hansen, S.; Foulks, I. G. and Ling, G. M.: Aliphatic and aromatic amines of cat brain.
J. Neurochem. 12, 397, (1965)

30. De Meis, L. and de Paula, H.: Polyamines and muscle relaxation. Inhibition of Actomyosin ATPase activity by spermine and spermidine.
Arch. Biochem. Biophys. 119, 16, (1967)

31. Caldarera, C. M.; Barbiroli, B. and Moruzzi, G.: Polyamines and nucleic acids during development of the chick embryo.
Biochem. J. 97, 84, (1965)

32. Van Rheenen, L. L.: High voltage paper electrophoretic and paper-chromatographic identification of biogenic amines in faeces of normal dairy cattle.
Rec. Trav. Chim. des. Pay Bas 82, 225, (1963)

33. Fischer, F. G. und BohnH.: Über die Bestimmung von Spermin, Spermidin und anderen biogenen Aminen nach papierelektrophoretischer Abtrennung und ihre Mengenverhältnisse in tierischen Organen.
Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol. Chem. 308, 108, (1957)

34. Kosaki, zit. bei Tabor (35)

35. Tabor, H. Tabor, C. W. and Rosenthal, S. M.: The biochemistry of the polyamines: spermidine and spermine.
Ann. Rev. Biochem. 30, 579, (1961)

36. Tabor, H.; Rosenthal, S. M. and Tabor, C. W.: The biosynthesis of spermidine and spermine from putrescine and methionine.
J. Biol. Chem. 233, 907, (1958)

37. Herbst, F. J.; Weaver, R. H. and Keister, D. L.: Gram reaction and cell composition: Diamines and polyamines.
Arch. Biochem. Biophys. 75, 171, (1958)

38. Kay, D.: The inhibition of bacteriophage multiplication by proflavine and its reversal by certain polyamines.
Biochem. J. 73, 149, (1959)

39. Ackermann: Die biogenen Amine der Puppe des Seidenspinners Bombyx mori L..
Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol. Chem. 302, 87, (1955)

40. Moruzzi, G. and Calderera, C. M.: Occurence of Polyamines in the germs of cereals.
Arch. Biochem. Biophys. 105, 209, (1964)

41. Cohen, S. S. and Lichtenstein, J.: Polyamines and ribosome structure.
J. Biol. Chem. 235, 236, (1966)

42. Raina, A. and Telaranta, T.: Assiciation of Polyamines and RNA in isolated subcellular particles from rat liver.
Biochim. Biophys. Acta 138, 200, (1967)

43. Weaver, R. H. and Herbst, E. J.: The oxidation of polyamines by Neisseria perflava.
J. Biol. Chem. 231, 646, (1958)

44. Tabor, C. W.; Tabor, H. and Rosenthal, S. M.: Purification of amine oxidase from beef plasma.
J. Biol. Chem. 208, 645, (1954)

45. Tabor, H.; Tabor, C. W. and Bachrach, U.: Identification of the amino-aldehydes produced by the oxidation of spermine and spermidine with purified plasma amine oxidase.
J. Biol. Chem. 239, 2194, (1964)

46. Dubin, D. T. and Rosenthal, S. M.: The acetylation of polyamines in Escherichia coli.
J. Biol. Chem. 235, 776, (1960)

47. Bachrach, U.: Spermidine oxidase from Serratia marcescens.
J. Biol. Chem. 237, 3443, (1962)

48. Razin, S. and Rozansky, R.: Mechanism of antibacterial action of spermine.
Arch. Biochem. Biophys. 81, 36, (1959)

49. Herbst, F.J. and Snell E.E.: Putrescine as a growth factor for Haemophilus influenzae.
J.Biol.Chem. 176, 989, (1948)

50. Weaver, R.H. and Herbst, E.J.: Metabolism of diamines and polyamines in microorganisms.
J.Biol.Chem. 231, 637, (1958)

51. Herbst, E.J. and Weaver, R.H.: The oxidation of polyamines by Neisseria perflava.
J.Biol.Chem. 231, 646, (1958)

52. Ames, B.N.; Dubin, D.T. and Rosenthal, S.M.: Presence of polyamines in certain bacterial viruses.
Science 127, 814, (1958)

53. Cantoni, G.L.: Action of spermine on soluble Ribonucleic acid and some polynucleotides.
Nature 188, 301, (1960)

54. Felsenfeld, G. and Huang, S.: The interaction of polynucleotides with metal ions, amino acids and polyamines.
Biochim.Biophys.Acta 37, 425, (1960)

55. Ames, B.N. and Dubin, D.T.: The role of polyamines in the neutralisation of bacteriophage desoxyribonucleic acid.
J.Biol.Chem. 235, 769, (1960)

56. Brewer, E.N. and Rusch, H.P.: Control of DNA replication: Effect of spermine in nuclei isolated from Physarum polycephalum.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 25, 579, (1966)

57. Dykstra, W. and Herbst, E.: Spermidine in regenerating liver: Relation to rapid synthesis of ribonucleid acid.
Science 149, 428, (1965)

58. Fisher, E.R. and Rosenthal, S.M.: Pathology and pathogenesis of spermine induced renal disease.
Arch.Pathol. 57, 244, (1954)

59. Mills, J. and Dubin, D.T.: Some effects of spermine on Escherichia coli.
Mol. Pharmacol. 2, 311, (1966)

60. Stadthagen, M. und Brieger, L.: Über Cystinurie.
Berl.klin.Wschr. 26, 244, (1889)

61. Garcia, S.A.: Über Ptomaine.
Hoppe-Seyler's Zschr.Phys.Chem. 17, 577, (1893)

62. Ackermann, D. und Kutscher, F.: Über das Vorkommen von Lysin im Harn bei Cystinurie.
Z.Biol. 57, 355, (1912)

63. Garrod, A.E.: The croonian lectures on inborn errors of metabolism, Lecture IV, Cystinuria.
Lancet 214, (1908)

64. Loewy und Neuberg: Über Dystinurie.
Hoppe-Seyler's Zschr.Phys.Chem. 43, 338, (1904)

65. Bödtker, E.: Beitrag zur Kenntnis der Cystinurie.
Hoppe-Seyler's Zschr.Physiol.Chem. 393, (1905)

66. Perry, Th.L. and Schroeder, W.: The occurence of amines in human urine: Determination by combined ion exchange and paper chromatographie.
J.Chromatog. 12, 358, (1963)

67. Holder, S. und Bremer, H.J.: Bestimmung der Di- und Polyamine im Urin. Chromatographische Methoden zur Anreicherung, Trennung und Identifizierung.
J.Chromatog. 25, 48, (1966)

68. Kakimoto, Y. and Armstrong, M.D.:
J.Biol.Chem. 237, 208, (1962), zitiert bei (67)

69. Dent, C.E. and Rose, G.A.: Amino acid metabolism in Cystinuria.
Quart.J.Med. New Series XX 79, (1951)

70. Stein, W.H.: Excretion of amino acids in Cystinuria.
Proc.Soc.Exp.Biol. 78, 705, (1951)

71. Linneweh, F.: Erbliche Stoffwechselkrankheiten.
München u. Berlin, Urban und Schwarzenberg 1962

72. Schreier, K.: Die angeborenen Stoffwechselanomalien.
Stuttgart, G. Thieme 1963

73. Eigene Beobachtung

74. Eigene Beobachtung

VIII. ABBILDUNGEN

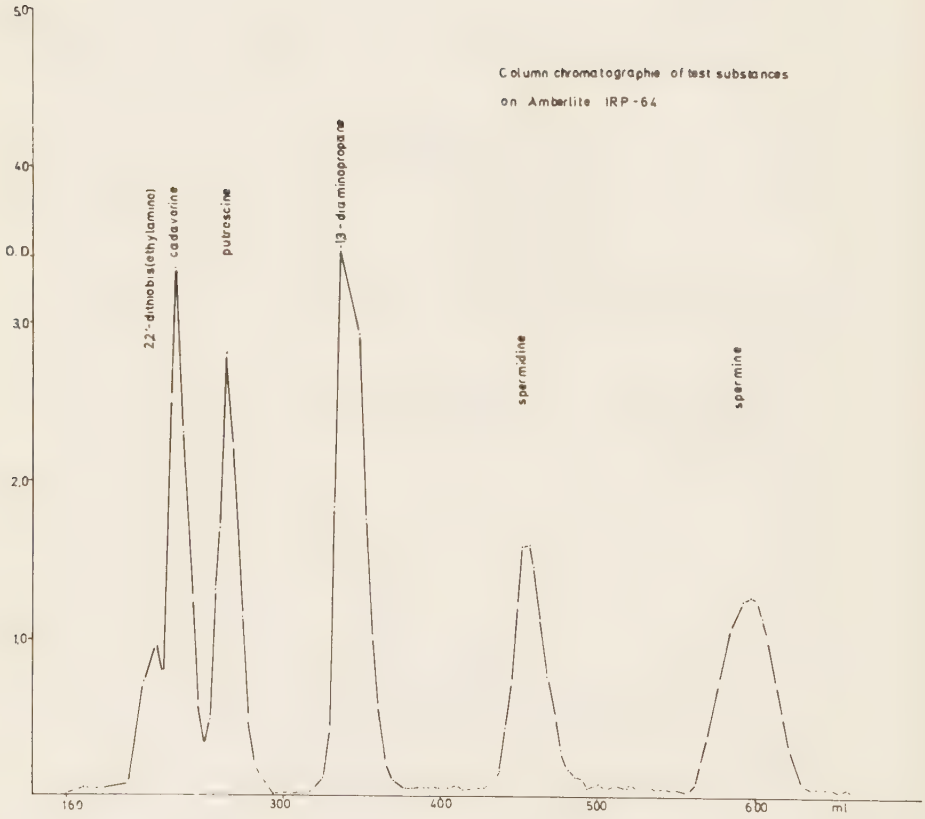

Abbildung 1: Säulenchromatographische Trennung von Testsubstanzen an Amberlite IRP 64

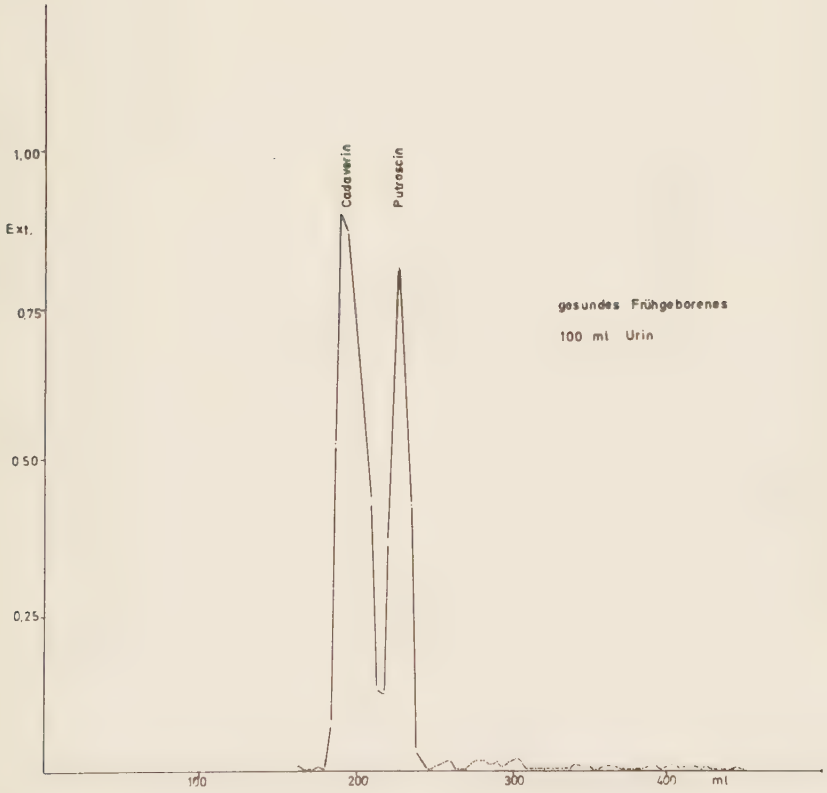

Abbildung 2: Auftrennung von 100 ml Urin eines gesunden Frühgeborenen an Amberlite IRP 64

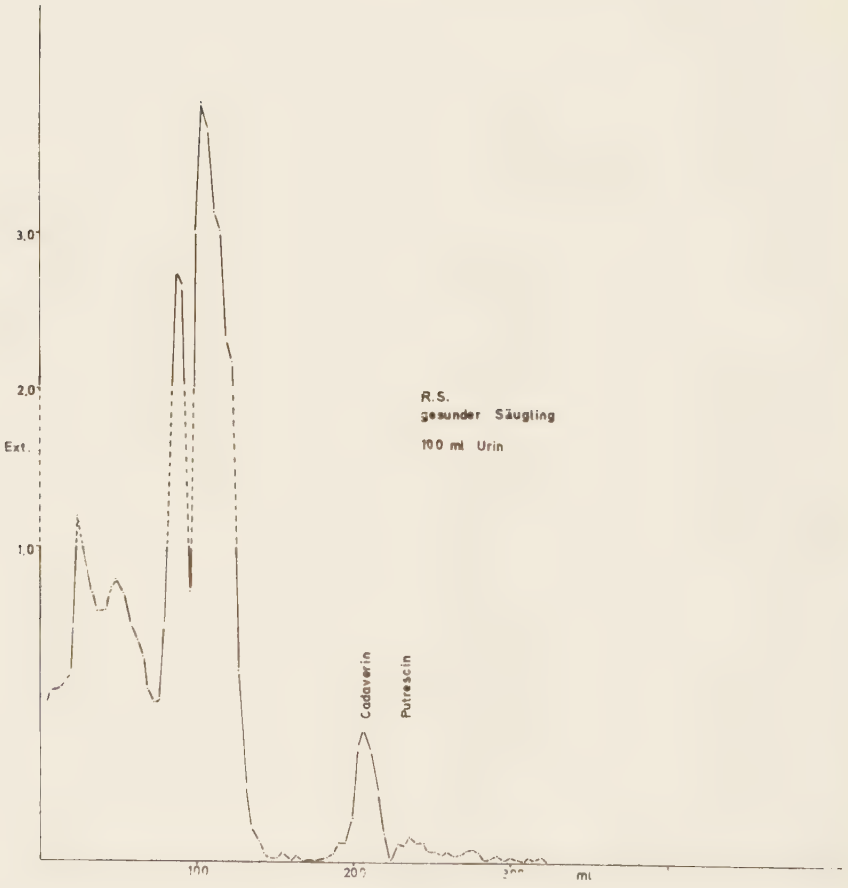

Abbildung 3: Auftrennung von 100 ml Urin eines gesunden Säuglings an Amberlite IRP 64

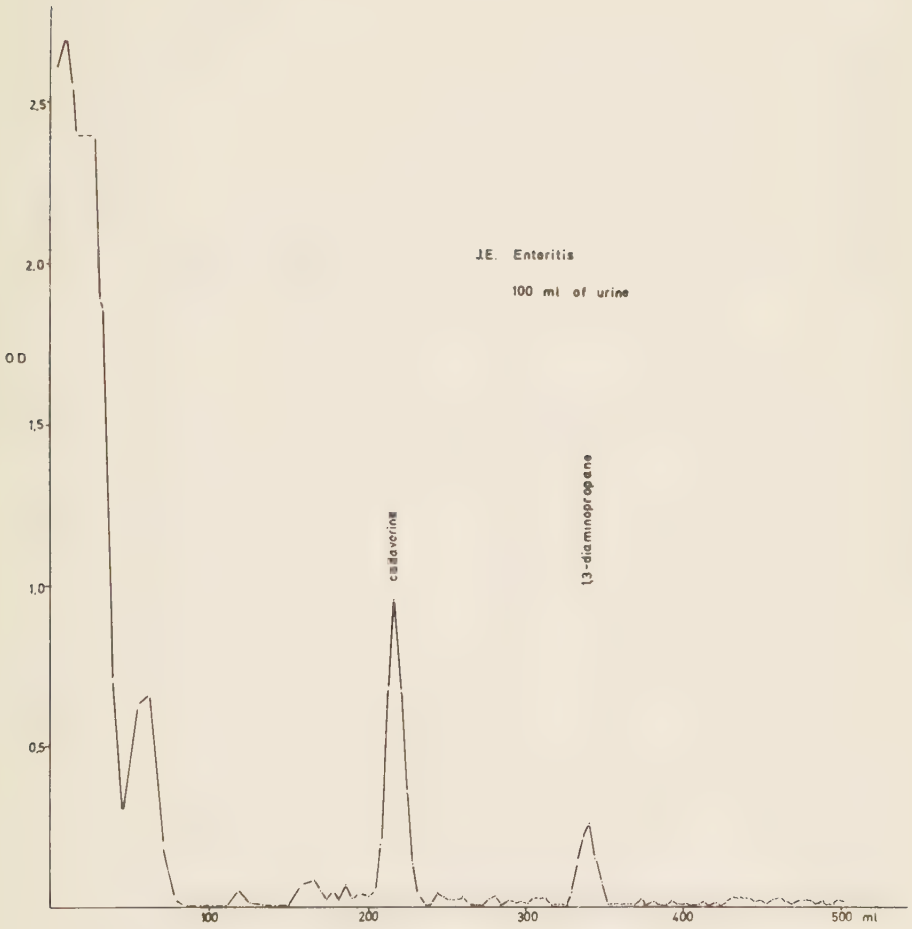

Abbildung 4: Säulenchromatographische Trennung von 100 ml Urin eines Kindes mit schwerer Dyspepsie und Toxikose

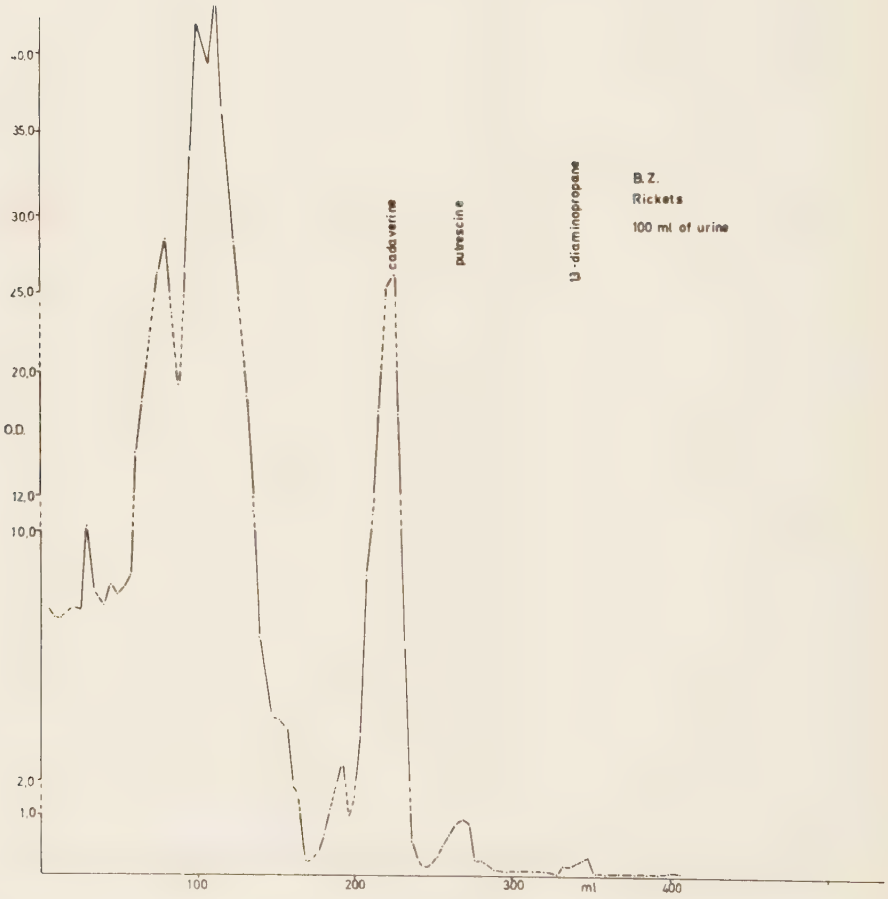

Abbildung 5: Säulenchromatographische Trennung von 100 ml Urin eines Kindes mit florider Vitamin D-Mangelrachitis

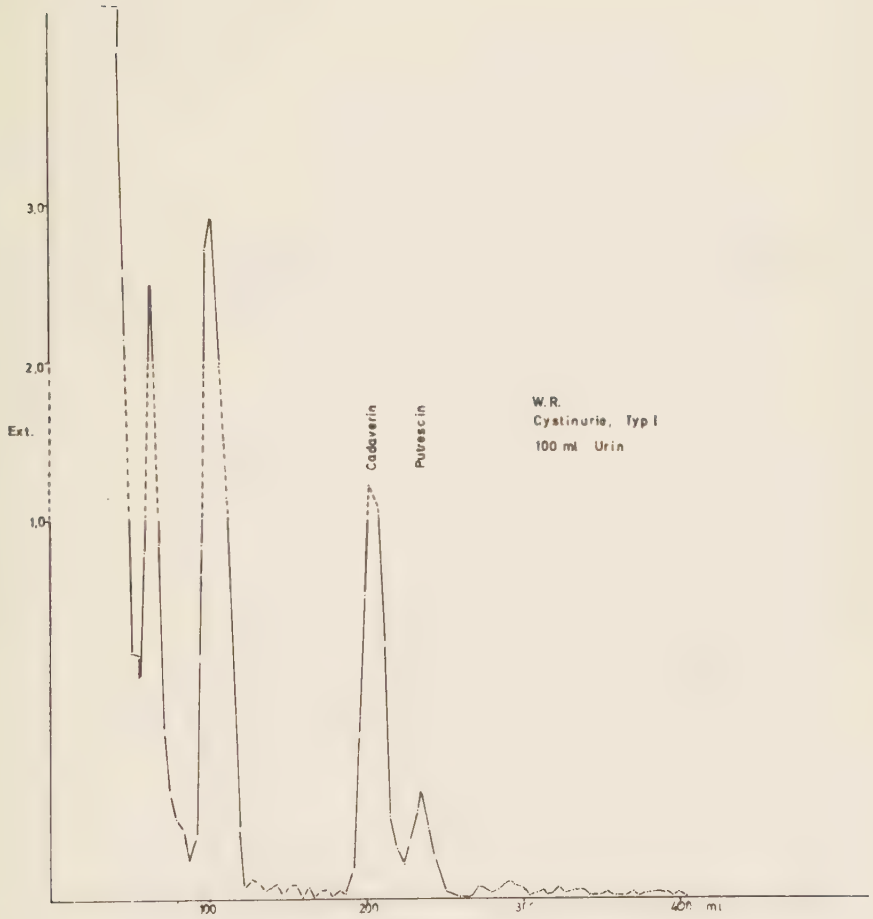

Abbildung 6: Trennung von 100 ml Urin eines Kindes mit Cystinurie Typ I

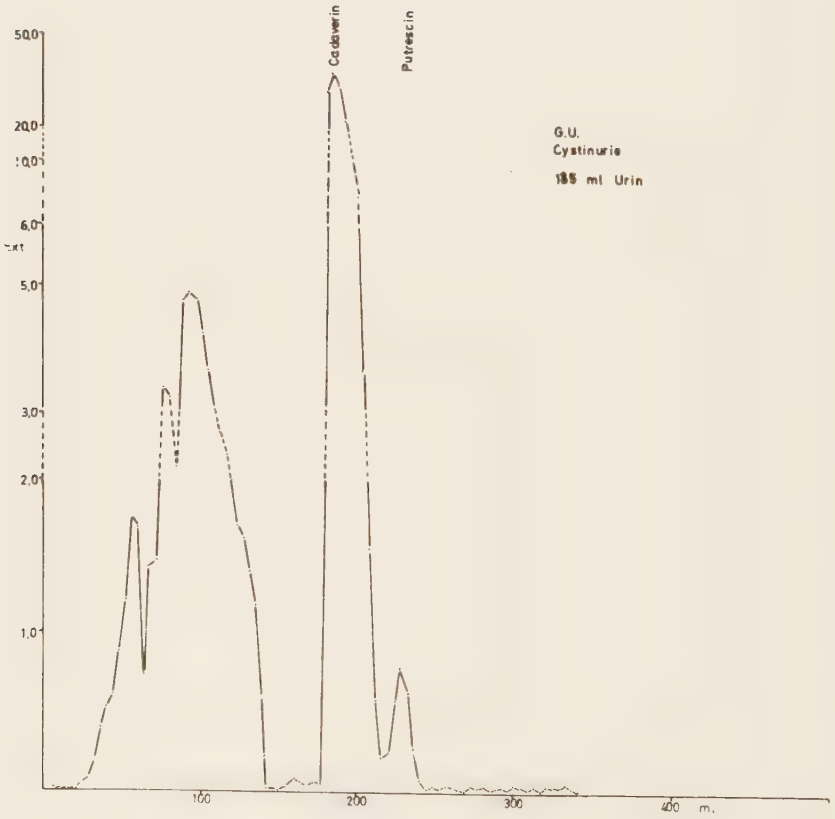

Abbildung 7: Säulenchromatographische Trennung von 85 ml Urin einer 42jährigen Patientin mit Cystinurie

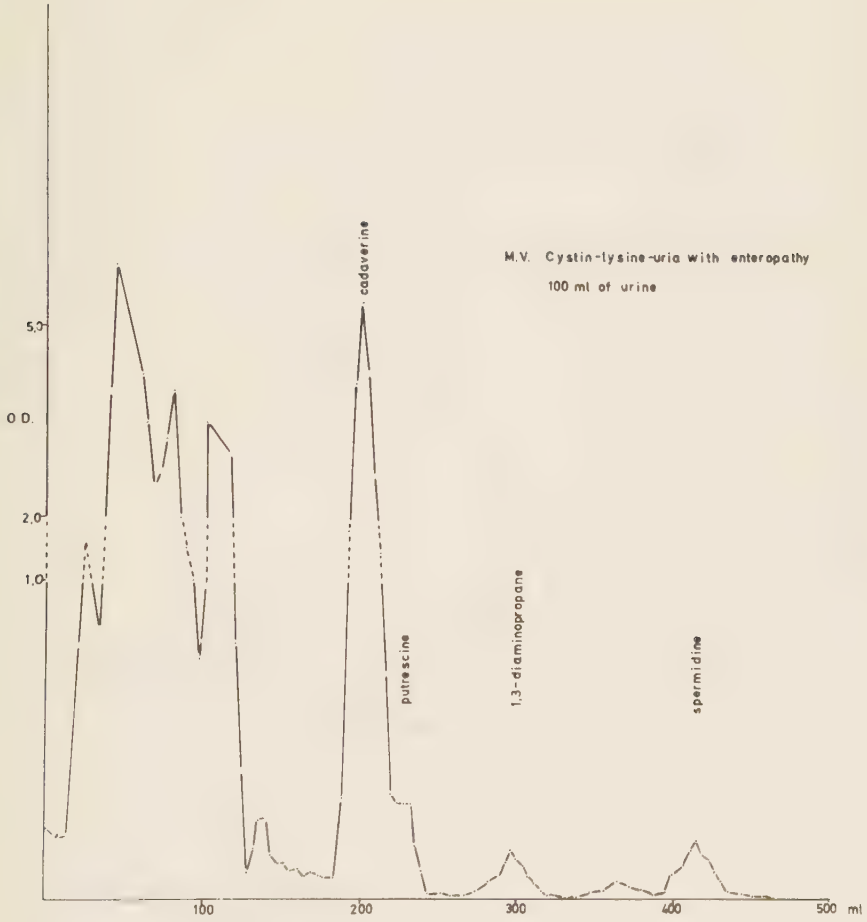

Abbildung 8: Säulenchromatographische Trennung von 100 ml Urin des Kindes E.V., Cystinlysinurie mit Enteropathie

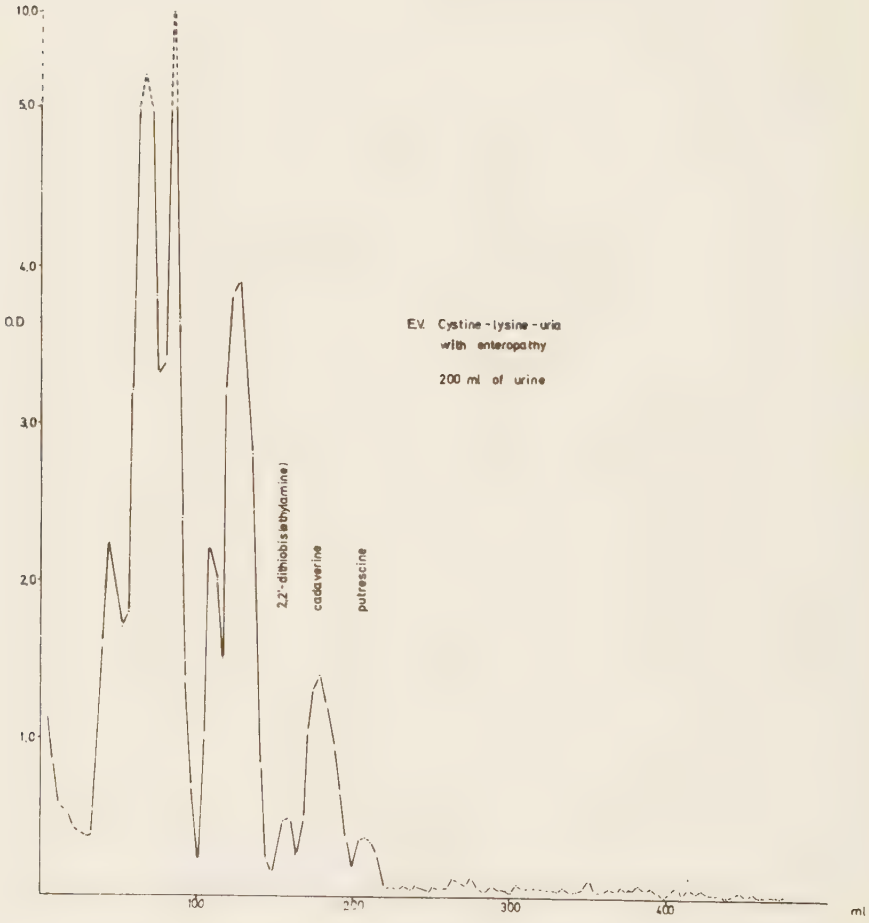

Abbildung 9: Säulenchromatographische Trennung von 200 ml Urin des Kindes E.V., Cystinlysinurie mit Enteropathie

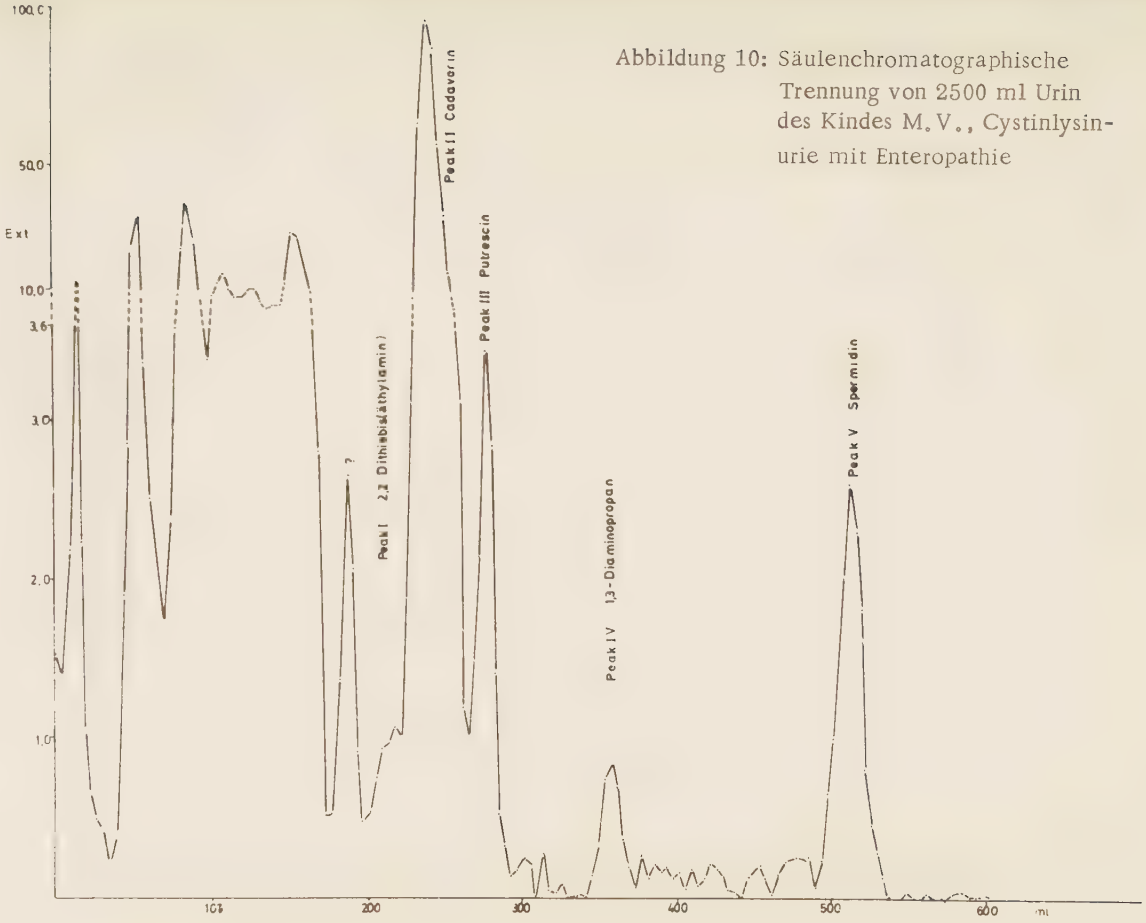

Abbildung 10: Säulenchromatographische Trennung von 2500 ml Urin des Kindes M.V., Cystinlysinurie mit Enteropathie

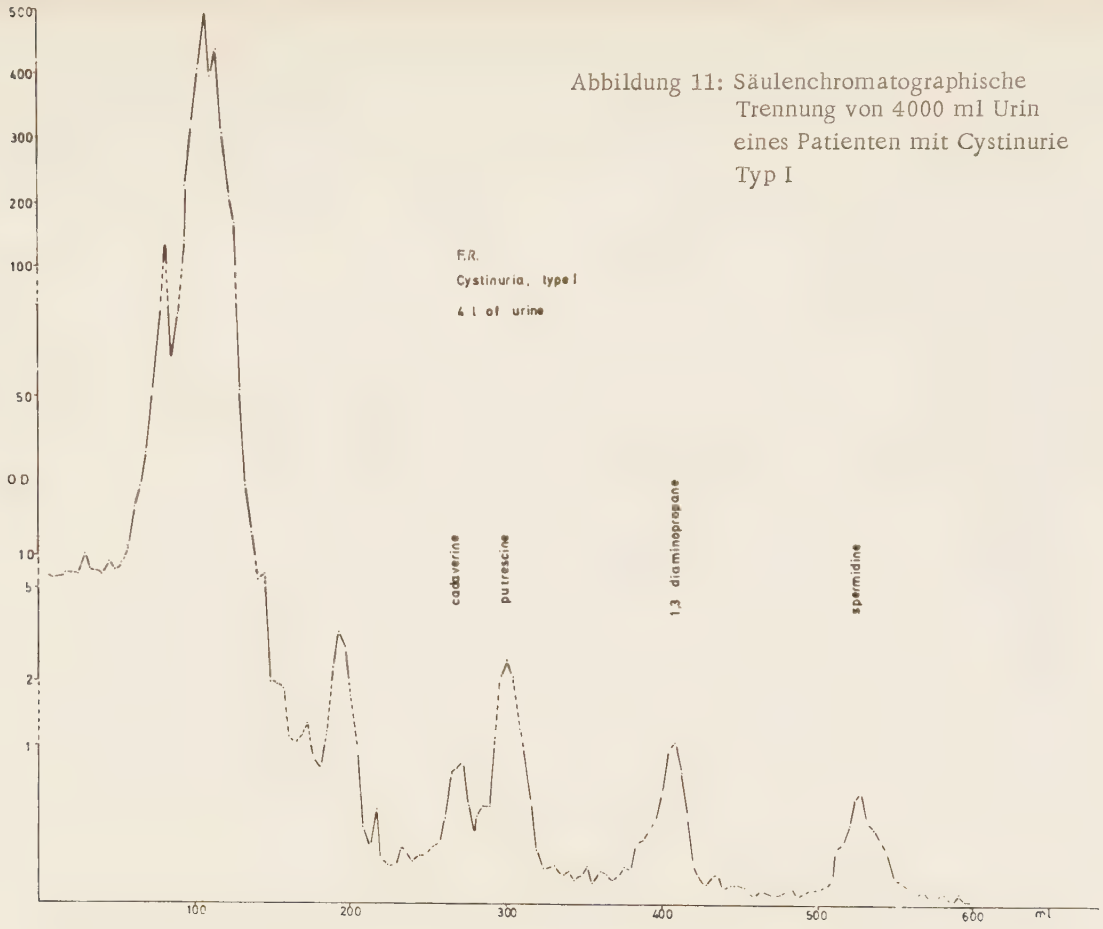

Abbildung 11: Säulenchromatographische Trennung von 4000 ml Urin eines Patienten mit Cystinurie Typ I

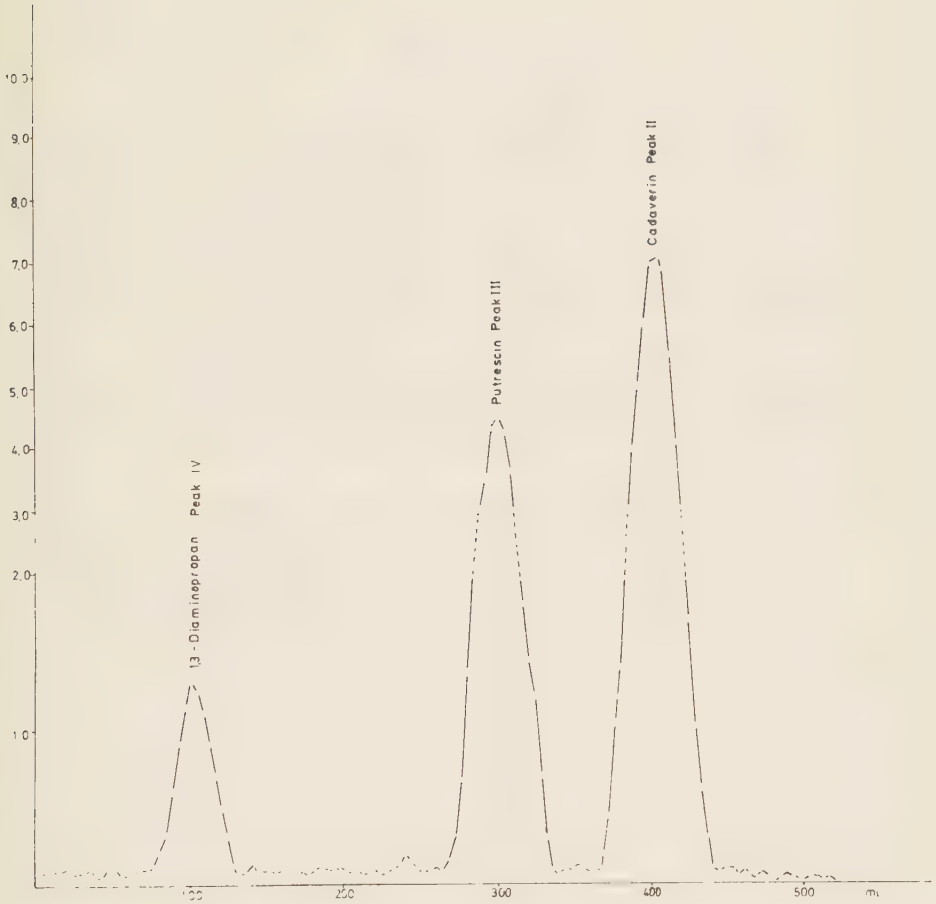

Abbildung 12: Säulenchromatographische Trennung der in Peak II bis IV enthaltenen Substanzen aus dem Urin von M.V. an Dowex 50 x 8, 200-400 mesh, H^+-Form mit einem HCl-Gradienten (Rechromatographie)

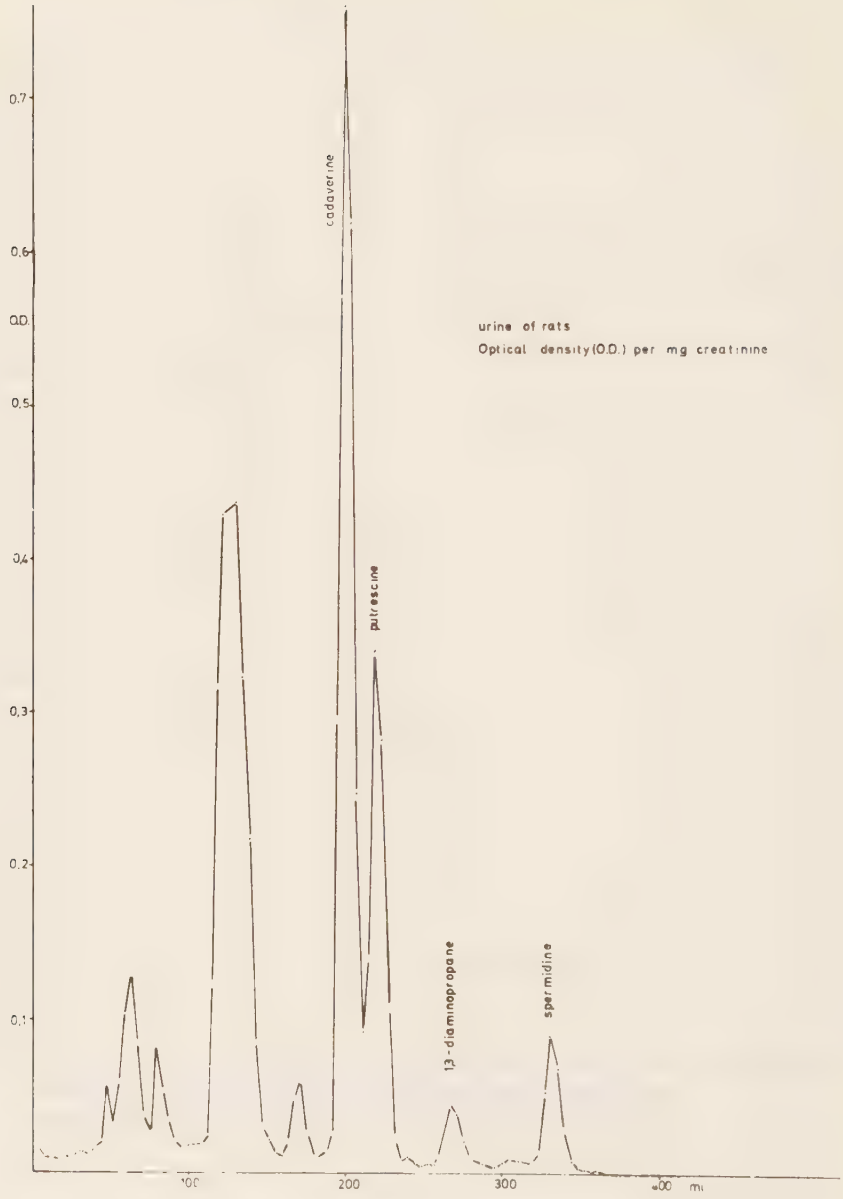

Abbildung 13: Säulenchromatographische Trennung eines 24-Std.Sammelurines von Sprague-Dawley-Ratten. Optische Dichte pro mg Kretinin.

Lebenslauf

Am 6. März 1940 wurde ich, Elisabeth Kohne, als drittes Kind des Apothekers Johannes Kohne und seiner Ehefrau Else, geb. Hömme, in Lengerich Kreis Lingen/Ems geboren.

Von 1946 bis 1951 besuchte ich die Volksschule in Lengerich, von 1951 bis 1960 war ich Schülerin am humanistischen Zweig des Gymnasium Georgianum in Lingen und legte dort im Frühjahr 1960 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1960 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Universität Münster und bestand dort im Frühjahr 1961 die naturwissenschaftliche Vorprüfung. Das vierte und fünfte vorklinische Semester studierte ich an der Universität Tübingen und legte anschließend dort das Physikum ab.
Während der klinischen Semester studierte ich ein Jahr in München und anschließend wieder in Tübingen, wo ich im Januar 1966 das Studium mit dem Staatsexamen abschloß.
Anschließend arbeitete ich bis zum Februar 1967 im Stoffwechsel-Labor der Universitätskinderklinik Tübingen an meiner Doktorarbeit.